



TITLE:

糸状性細菌の増殖に起因する活性
汚泥バルキングの基礎的研究(
Dissertation_全文)

AUTHOR(S):

池本(山本), 良子

CITATION:

池本(山本), 良子. 糸状性細菌の増殖に起因する活性汚泥バルキングの
基礎的研究. 京都大学, 1992, 博士(工学)

ISSUE DATE:

1992-05-23

URL:

<https://doi.org/10.11501/3089087>

RIGHT:

糸状性細菌の増殖に起因する
活性汚泥バルキングの基礎的研究

平成4年1月

池本（山本）良子

目 次

第1章 緒論		
第1節 概説	-----	1
第2節 研究の目的と概要	-----	4
参考文献	-----	5
第2章 顕微鏡－ビデオモニター装置による糸状体長およびフロック形状の測定方法の開発とその応用		
第1節 緒言	-----	7
第2節 顕微鏡－ビデオモニターシステムを用いた糸状体長およびフロック形状の測定方法	-----	8
2. 1 糸状体長の測定方法	-----	8
2. 2 フロック径の測定方法とフロック形状の評価方法	-----	12
第3節 糸状性細菌の活性汚泥性状に及ぼす影響	-----	14
3. 1 沈降性に及ぼす影響	-----	14
3. 2 濃縮性に及ぼす影響	-----	19
3. 3 フロック形状に及ぼす影響	-----	21
3. 4 糸状性細菌のフロック生成に果たす役割	-----	23
第4節 糸状性細菌の増殖速度の測定	-----	25
4. 1 糸状性細菌の増殖速度の測定方法	-----	25
4. 2 糸状性細菌の増殖速度と沈降性の変化	-----	25
第5節 結言	-----	28
参考文献	-----	29
APPENDIX	-----	30
第3章 <i>Sphaerotilus natans</i> の増殖によるバルキングの発生に及ぼす活性汚泥の貯蔵、代謝の影響		
第1節 緒言	-----	33
第2節 貯蔵物質の抽出方法の開発	-----	35
2. 1 実験方法	-----	35
2. 1. 1 細胞外物質の抽出方法	-----	35
2. 1. 2 細胞内多糖類の抽出方法	-----	35
2. 1. 3 汚泥内全炭水化物の抽出方法	-----	35
2. 1. 4 混合液全炭水化物の抽出方法	-----	36
2. 1. 5 PHBの抽出方法	-----	36
2. 1. 6 分析方法	-----	36
2. 1. 7 活性汚泥の基質除去試験方法	-----	37
2. 2 実験結果および考察	-----	37

2. 2. 1	細胞外物質の抽出方法	-----	37
2. 2. 2	細胞内多糖類の抽出方法	-----	38
2. 2. 3	混合液全炭水化物の抽出方法	-----	40
2. 2. 4	汚泥内炭水化物の分画	-----	44
2. 2. 5	グルコース、でんぷんおよびスキムミルクの除去機構	-----	46
第3節	活性汚泥の沈降性と多糖類貯蔵能力および炭水化物代謝速度の 関係	-----	52
3. 1	実験方法	-----	52
3. 1. 1	活性汚泥の培養	-----	52
3. 1. 2	活性汚泥能力試験方法	-----	55
3. 1. 3	活性汚泥装置試験方法	-----	55
3. 2	実験結果と考察	-----	55
3. 2. 1	生成汚泥の性状と出現糸状性細菌	-----	55
3. 2. 2	能力試験結果	-----	62
3. 2. 3	装置内試験結果	-----	64
3. 2. 4	多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度	-----	65
3. 2. 5	多糖類貯蔵容量および炭水化物代謝速度と糸状性バルキ ングの関係	-----	69
第4節	糸状性細菌とフロック形成細菌の間の競合増殖計算	-----	71
4. 1	活性汚泥の代謝モデル	-----	71
4. 2	モデルの検証	-----	73
4. 3	代謝モデルの運転条件への適用	-----	74
4. 4	糸状性細菌とフロック形成細菌の競合増殖シミュレーション	-----	76
第5節	結言	-----	89
参考文献		-----	90
第4章	糸状性硫黄細菌に起因するバルキング発生に及ぼす硫酸塩還元 の影響		
第1節	緒言	-----	95
第2節	都市下水の有機物組成と最初沈澱池における硫酸塩還元を伴う 水質変化	-----	96
2. 1	調査方法および実験方法	-----	96
2. 1. 1	調査対象施設	-----	96
2. 1. 2	実験方法	-----	96
2. 2	調査結果と考察	-----	97
2. 2. 1	初沈越流水の水質と活性汚泥の沈降性の関係	-----	97
2. 2. 2	最初沈澱池における水質変化	-----	100
第3節	グルコースとペプトンで馴養した活性汚泥における硫酸塩還元 について	-----	104
3. 1	実験方法	-----	104

3. 1. 1	実験装置と運転方法	-----	104
3. 1. 2	分析方法	-----	106
3. 1. 3	回分実験	-----	106
3. 2	実験結果と考察	-----	107
3. 2. 1	生成した活性汚泥の特徴	-----	107
3. 2. 2	各時間および各槽の水質分析結果	-----	111
3. 2. 3	硫酸塩還元が糸状性細菌の増殖とりん除去に及ぼす影響	-----	115
3. 2. 4	活性汚泥の有機物分解に果たす硫酸塩還元菌の役割	-----	118
3. 2. 5	活性汚泥中の硫酸塩還元菌数	-----	119
第4節	酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における硫酸塩還元につい て	-----	121
4. 1	実験方法	-----	121
4. 1. 1	実験装置と運転方法	-----	121
4. 1. 2	分析方法	-----	122
4. 1. 3	回分実験	-----	123
4. 2	実験結果と考察	-----	123
4. 2. 1	生成した活性汚泥の特徴	-----	123
4. 2. 2	各槽の水質分析結果	-----	128
4. 2. 3	硫酸塩還元菌の有機物分解に果たす役割	-----	128
4. 2. 4	活性汚泥中の硫酸塩還元菌数	-----	137
第5節	活性汚泥内の微生物生態系	-----	138
5. 1	生態系モデルの概要	-----	138
5. 2	グルコースとペプトンで馴養した活性汚泥における生態系	-----	139
5. 3	酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における生態系	-----	141
5. 4	実処理場の活性汚泥の生態系	-----	144
第6節	結言	-----	146
参考文献		-----	148
第5章	結論	-----	149
謝辞		-----	153

第1章 緒論

第1節 概説

有機性廃水の処理方法として、種々の生物処理が行われている。これらはいずれも水の自浄作用のある部分を効率よく進行させるもので、曝気条件下で自然発生的に増殖した微生物を利用した、いわゆるバイオエンジニアリングの先駆的なものである。中でも活性汚泥法は水質変動に強く、良好な処理水を得られることから、古くからその中心的地位を占めてきた。近年、閉鎖水域の富栄養化問題のクローズアップにともない、活性汚泥法は前段部に嫌気槽を付加することによって窒素やリンの栄養塩類の除去が行われることから、益々その有効性が見直されている。一方、我が国の下水道普及率100%達成には小規模下水道の増大が必須であると考えられるが、自動制御技術等の発展にともない回分式活性汚泥やオキシデーションディッチ法が小規模下水道の処理方式として見直され各地で採用されるに至っている。これらの処理方式も活性汚泥法の一種である。このような事情から、活性汚泥法は当分は廃水処理方式の中心的地位を譲ることはないであろう。

活性汚泥法では、微生物が曝気槽で成育し有機物を分解することは勿論であるが、最終沈澱池でこれらの微生物がかならず沈降して固液分離ができることが重要である。この固液分離に失敗すると、汚泥が処理水とともに流出して公共水域を汚染することになる。また、汚泥の流出にともない、返送汚泥量が減少し曝気槽の微生物濃度が減少することにより処理効率の低下を招くことになる。これは、実処理場の運転管理者にとって最大の技術的問題である。

このような固液分離の障害は主に活性汚泥中に糸状性細菌が増殖することによって引き起こされる。この糸状性バルキングは、発生が急激であり、かつ一度発生するとその回復に非常に長い時間を要する。処理方式別では長時間曝気法やオキシデーションディッチ法等で、バルキングが発生しやすい。バルキングが発生しにくいといわれている回分式活性汚泥法でも廃水の注入中に曝気を行うと、バルキングが発生することがある。しかし、これらの処理法は比較的敷地面積に恵まれた小規模処理場で主に採用されており、最終沈澱池の水面積負荷を大きくとってあるため、汚泥の流出に至らない場合が多いようである¹⁾。反面、標準活性汚泥法やステップエアレーション法の採用されている大規模下水処理場の方がバルキングが発生した場合、汚泥の流出、汚泥量の低下、その結果としておこる有機物負荷量の増大等運転管理上大きな問題を生じることになる。しかし、糸状性バルキング汚泥の沈澱上澄み水は透明であり、汚泥の流出さえ起こらなければ、かえって良好な処理水が得られることが知られている。Jenkins ら²⁾は糸状性細菌が骨格となって凝集性の良いフロックを形成していると述べている。糸状性細菌の現存量を正確に把握し、活性汚泥中での糸状性細菌の役割を明確にすることが重要である。また、バルキングの原因の解明のためにも糸状性細菌の現存量の把握は重要であると考

えられる。活性汚泥は開放型の混合微生物集団であり、微生物間の種々の競合関係や共生関係が成立している。その中で糸状性細菌が優勢に増殖した場合にバルキングに至る。環境条件による微生物相の変遷の結果としてバルキングの発生を捕らえることが重要と考えられる。糸状性細菌とは、糸状に増殖する細菌の総称であり、その中には多くの種類が存在する。その種類によって発生原因が異なるのは当然のことであるから、糸状性細菌の分類は非常に重要である。Eikelboom³⁾は糸状性微生物を主にその形態と染色性で分類する方法を提案し、現在多くの研究者はこの方法で分類を行っている。また、わが国では河野⁴⁾がグラム染色性およびイオウ蓄積性と鞘の形態を重視した独自の方法で糸状性細菌の分類を行っている。河野は、Eikelboomの分類の整合性は良くはないと報告している。筆者の経験では、染色方法、硫黄テストは河野の方法が非常に有効である。また、Eikelboomの分類では多くの種類がType 021Nに含まれてくるが、この種の細菌に関しては多くの研究報告^{5),6)}があり硫黄蓄積性を示すものをType 021Nとするのが通説となっている。河野のII-3タイプはこのType 021Nと同一のものであると報告されている⁹⁾。

Eikelboomはこの方法に従ってオランダ国内の下水処理場で出現した糸状性細菌の調査を行った³⁾。同様に、Jenkinsら⁸⁾は合衆国の調査を、境ら^{9),10)}は日本の調査を行っている。その結果をまとめてTable 1.1に示す。この中で、*Sphaerotilus natans* (河野タイプII-1)は、実験室レベルで最も多く観察される糸状性細菌であるが、出現頻度のランクでは合衆国とオランダで7位、日本では6位である。*Sphaerotilus natans*に類似していると報告されているType 1701は合衆国では第1位、オランダで第5位、日本ではほとんど観察されていない。Jenkinsら⁸⁾は、調査結果を基に、糸状性細菌を低DOが原因で発生するものと低F/M比が原因で発生するものとに分類しており、低DOで発生する糸状性細菌の代表的なものが*Sphaerotilus natans*とType 1701であると報告している。Chudobaら^{11),12),13)}は有名な基質濃度勾配説とAccumulation-regeneration説で*Sphaerotilus natans*の増殖の原因を説明しており、安田は飢餓時間比説を提唱している¹⁴⁾。また、Jenkinsら¹⁵⁾は実験室レベルでの*Sphaerotilus natans*の増殖は注入管内に増殖した*Sphaerotilus natans*のシーディングによることが多いことを報告している。このように、*Sphaerotilus natans*の増殖に関しては多くの報告があるが、いずれも*Sphaerotilus natans*の有機物代謝、主に貯蔵現象に関係していると考えられる。微生物間の貯蔵や代謝の能力の差によるセレクションが活性汚泥内で生育する微生物種を決定すると考えられるため、*Sphaerotilus natans*の活性汚泥という混合微生物集団の中での代謝機構を明らかにすることが重要である。

一方、日本で第1位の出現頻度のType 021Nはオランダでは第2位、合衆国では第4位と、世界的にも出現頻度は高い。前述したように、Type 021Nは硫化物を酸化して細胞内に硫黄を蓄える性質をもっている。すなわち、還元型硫黄種を酸化してエネルギーを得ることができる。同様な性質を持つ糸状性細菌*Thiothrix* sp.や*Beggiatoa* sp.も活性汚泥内にしばしば出現する。これらは糸状性硫黄細菌と呼ばれており、廃水中の硫化物の存在が糸状性硫黄細菌の増殖の二次的な因子であるとの報告がある⁸⁾。一方、硫酸塩還元菌は自然界に多く存在する細菌であり、硫酸塩は下廃水中に必ず含まれているイオンである。下水管内では硫酸塩還元菌が活発に活動し、下水管のコンクリート腐食の原因となっていることはよく知られている。活性汚泥内で硫酸塩還元菌と糸状性硫黄細菌との共生関係が存在していることは十分に考えられるであろう。活性汚泥内の硫酸塩還元菌

Table 1.1 Relative frequency of various types of filamentous micro-organisms observed in activated sludge.

Filament Type	Japanese Rank ^a	U. S. Rank ^b	Netherlands Rank ^c	Austrian Plant ^d
Type 021N	1	4	2	+
Type 1851	2	10	12	
<i>M. parvicella</i>	3	8	1	+
Type 0961	4	15	10	
<i>Nocardia</i> sp.	5	2	14	
<i>Sphaerotilus</i> sp.	6	7	7	+
<i>Haliscomenobacter hydrolysis</i>	7	6	3	+
Type 0803	8	13	9	
Type 0041	9	3	6	+
<i>Nostocoida limicola</i>	10	14	11	
Type 1701	-	1	5	
Type 0092	-	5	4	
Type 0581	-	9	8	
Type 1863	-	11	-	
<i>Thiothrix</i> sp.	-	12	19	
Type 1702	-	16	-	
<i>Bacillus</i> sp.	-	17	-	
Fungi	-	18	15	
<i>Beggiatoa</i> sp.	-	19	18	
<i>Cyanophyta</i>	-	20	13	
<i>Saprospira</i> sp.	-	21	-	

^a Based on 22 samples in which filamentous bacteria grew the rank of ++ in 30 plants reported by Sakai et al.

^b Based on 226 samples from 78 plants in USA reported by Jenkins et al.

^c Based on Netherlands plants reported by Eikelboom.

^d Found to be most common in 68 Austrian activated sludge plants by Matsche.

^{ab,c} Based on number of plant in which filamentous type was a major component.

の存在とその役割について明確にしておくことが重要と考えられる。糸状性バルキングの抑制方法は種々提案されているが、対症療法的に糸状性細菌を減少させる方法と施設の改良を伴った方法がある。前者は塩素やオゾン、その他の薬剤の添加による方法であるが、これらの方法は一時的な方法であり、問題の根本的解決にはならない。後者の方法として、最初沈澱池の縮小や、槽を仕切って押し出し流れに近いフローパターンにすること等の他、近年は水中攪拌器の改良に伴い嫌気好気法の採用によるバルキング抑制が各地で行われ、一応の効果を収めている¹⁶⁾。しかし、これらの方法が何故バルキングの抑制に効果があるかについては定説がない。嫌気好気法では脱窒能もPoly-P蓄積能もない糸状性細菌が抑制されるといわれている^{17),18),19)}が、標準法において糸状性細菌が増殖

できる理由がないために矛盾が生じる。バルキングの原因を解明することが、安定したバルキング抑制を行うために最も重要であると考えられる。

第2節 研究の目的と概要

本論文は、主に、*Sphaerotilus natans* と Type 021N の2種類の糸状性細菌の増殖に起因する活性汚泥バルキングについて、検討を行なったものである。論文は6章で構成されている。第2章は、顕微鏡—ビデオモニター装置による糸状体長およびフロック形状の測定方法の開発とその応用について述べており、第3章は *Sphaerotilus natans* の過剰増殖に起因するバルキングの発生機構について、活性汚泥の貯蔵、代謝機構との関係を検討したものであり、第4章は糸状性硫黄細菌（主に Type 021N）によるバルキング発生に及ぼす硫酸塩還元の影響について検討を行なったものである。第5章は、本研究で得られた成果をまとめ、今後の課題を提示している。具体的な内容は以下の様である。

第2章では、糸状性細菌の現存量の正確で迅速な把握のために、顕微鏡—ビデオモニター装置による糸状体長およびフロック形状の計測方法を開発した^{20),21)}。その方法を種々の活性汚泥に適用し、糸状性細菌の沈降性、濃縮性およびフロック形状に与える影響を検討することにより、糸状性細菌のフロック形成に果たす役割を明らかにした^{22),23),24)}。更に、糸状性細菌の活性汚泥内での増殖速度の測定を行い、沈降性の急激な悪化の理由を明らかにした^{23),24)}。最後に、糸状性細菌の現存量の適切な管理方法を提案した。

第3章では、まず、活性汚泥の多糖類貯蔵量を測定する方法の開発を行なった²⁵⁾。次に、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて種々の運転方法で活性汚泥装置の運転を行い、生成した活性汚泥の多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度の測定を行なった。その結果から、バルキング発生条件を整理し、*Sphaerotilus natans* の多く増殖した活性汚泥の特性を明らかにした^{25),26)}。更に、貯蔵過程を考慮した簡単な代謝モデルを構築し、多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度の異なる2種類の細菌（糸状性細菌とフロック形成細菌）の共存下での増殖計算を行なうことにより、*Sphaerotilus natans* の増殖によるバルキングの発生機構を明らかにした²⁷⁾。

第4章では、まず、下廃水中の硫酸塩濃度と有機物組成を把握するとともに最初沈殿池での硫酸塩還元を伴う水質変化について調査した²⁸⁾。次に、グルコースとペプトンまたは酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて活性汚泥の馴養を行い、硫酸塩還元と糸状性硫黄細菌 Type 021N の増殖およびりん除去の関係を明らかにすると共に、硫酸塩還元菌の利用している有機物の推定を行なうことによって活性汚泥中での役割を明らかにした^{29),30)}。最後に、得られた実験結果から、活性汚泥内での細菌群の生態系について考察を行った。

このように、本研究は、2種類の糸状性細菌の活性汚泥内での増殖を、それぞれの微生物間の競合や共生関係として捕らえることにより、バルキングの発生機構を解明したものである。

参考文献

- 1) 松井三郎, 山本良子他6名: 閉鎖水域における下水道の効果とその評価, 「環境科学」研究報告書 B 3 2 8 - R 0 2 - 5, 昭和62年3月
- 2) Sezgin M. and Jenkins D.: A unified theory of filamentous activated sludge bulking. *J. Water Pollution Control Fed.*, Vol. 50, pp. 362-381, 1978.
- 3) Eikelboom D. H.: Identification of filamentous organisms in bulking activated sludge. *Prog. Wat. Tech.*, Vol. 8, No. 6, pp. 153-161.
- 4) Tetsuro Kohno, Shin Satoh and Kooji Yashima: The determination of a filamentous bacteria in activated sludge mixed population. 京都大学衛生工学会第8回シンポジウム講演論文集, 1986/7.
- 5) Williams, T. M. and Unz, R. F.: Filamentous sulfur bacteria of activated sludge- Characterization of *Thiothrix*, *Beggiatoa*, and Eikelboom type 021N strains. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol. 49, pp. 887-898, 1985.
- 6) Williams, T. M. and Unz, R. F.: Nutrition of *Thiothrix*, *Beggiatoa*, type 021N, and *Leucothrix* strains. *Water Res.*, Vol. 23, pp. 15-22, 1989.
- 7) 河野哲郎, 猪又正一: 活性汚泥中の糸状性細菌の識別, 生理, および栄養形式, 用水と廃水, Vol. 31, No. 5, pp. 17-41, 1989.
- 8) Storm P. F. and Jenkins D.: Identification and significance of filamentous microorganisms in activated sludge. *JWPRC*, Vol. 56, pp. 449-459, 1984.
- 9) 中村正雄, 境好雄, 河野哲郎: 下水処理バルキングにおける糸状性バルキングについて, 下水道協会誌, Vol. 22, No. 252, pp. 2-12.
- 10) 境好雄: 下水処理場におけるバルキング—その実態と対策の現状—, 月間下水道, Vol. 13, No. 3, pp. 2-11.
- 11) Chudoba J., Grau P. and Ottova V.: Control of activated sludge filamentous bulking - II Selection of microorganisms by means of a selector. *Water Res.*, Vol. 7, pp. 1389-1406, 1973
- 12) Cech J. S. and Chudoba J.: Influence of accumulation capacity of activated sludge microorganisms on kinetics of glucose removal. *Water Res.*, Vol. 17, No. 6, pp. 659-666, 1983.
- 13) Chudoba J., Cech J. S., Farkac J. and Grau P.: Control of activated sludge filamentous bulking - Experimental verification of a kinetic selection theory. *Water Res.*, Vol. 19, No. 2, pp. 191-196, 1985.
- 14) 安田正志, 能登雄二: *Sphaerotilus* sp. を原因とする糸状性バルキングと飢餓時間比の影響. 下水道協会誌, Vol. 18, No. 202, pp. 41-49, 1981
- 15) Gabb D. M. D., Ekama G. A. Jenkins D. and Marais G. V. R.: Incidence of *Sphaerotilus natans* in laboratory scale activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 21, Brighton, pp. 29-41, 1989.
- 16) 橋本奨他10名: 特集/ バルキング対策を考える —活性汚泥の個液分離障害<その1>—, 月間下水道, Vol. 13, No. 3, 1990.
- 17) Wanner J., Chudoba J., Kucman K. and Proske L.: Control of activated sludge filamentous bulking -- VII Effect of anoxic conditions. *Water Res.* Vol. 21, pp. 1447-1451, 1987.

- 18) Shao Y. J. and Jenkins D. : The use of anoxic selectors for the control of low F/M activated sludge bulking. *Water Sci. Tech.*, Vol. 21, (6/7), pp. 609-619, 1989.
- 19) Wanner J., Kucman K., Ottava V. and Grau P. : Effect of anaerobic conditions on activated sludge filamentous bulking in laboratory systems. *Water Res.*, Vol. 21, pp. 1541-1546, 1987.
- 20) 松井三郎・山本良子： カラーテレビモニターを用いた活性汚泥の糸状性細菌長，糸状菌長およびフロック投影面積の測定，下水道協会誌，Vol. 20, No. 224, 1983/1.
- 21) Matsui, S. and Yamamoto R. : The use of color TV technique for measuring filament length and investigating sludge bulking causes. *Water Sci. Tech.*, Vol. 16, Vienna, pp 69-81, 1984.
- 22) 松井三郎・山本良子： 活性汚泥の沈降性に及ぼす糸状性細菌，糸状菌の役割，下水道協会誌，Vol. 20, No. 225, 1983/2
- 23) 松井三郎，山本良子： 活性汚泥の圧密性凝集性に及ぼす糸状性微生物の役割，下水道協会誌，Vol. 21, No. 250, 1984/1.
- 24) Yamamoto, R. and Matsui S. : Measuring the growth rate of filamentous bacteria and influence of the bacteria on settleability, thickening property and floc configuration of activated sludge. *Advanced in Water Pollution Control, Water Pollution in Asia*, pp 329-335, 1989.
- 25) 松井三郎，山本良子： 活性汚泥の多糖類貯蔵能力および *Sphaerotilus natans* の出現に及ぼす接触負荷量の影響，下水道協会誌，Vol.25, No. 286, pp.53-63, 1988.
- 26) Yamamoto, R. and Matsui S.: Influence of contact loading on polysaccharide storage and settleability of activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 21, Brighton, pp. 1639-1642, 1989.
- 27) 山本（池本）良子，小森友明，松井三郎： 回分式活性汚泥法における負荷速度と *Sphaerotilus natans* の増殖の関係，衛生工学論文報告集，Vol. 26, pp. 19-29, 1990.
- 28) 山本（池本）良子，小森友明，松井三郎： 都市下水の最初沈澱池における水質変化について，第27回衛生工学研究討論会講演集，pp. 1-2, 1991.
- 29) Yamamoto R. I., Matsui S. and Komari T. : Filamentous bulking and hinderance of phosphate removal due to sulfate reduction in activated sludge. *Wat.Sci. Tech.*, Vol. 23, Kyoto, pp. 927-935, 1991.
- 30) 山本良子，小森友明，松井三郎： 酢酸と蛋白質で馴養した活性汚泥における硫酸塩還元と糸状性バルキングの関係，衛生工学論文報告集，Vol. 28, 1992.

第2章 顕微鏡—ビデオモニター装置による糸状体長およびフロック形状の測定方法の開発とその応用

第1節 緒言

活性汚泥中に糸状に増殖する微生物が多く増殖すると沈降性が悪化することが良く知られている。しかし、沈降性の悪化した活性汚泥の中には、フロック内に粘性物質を多量に蓄えたもの（高粘性バルキング）や、汚泥が分散状態で全く沈降しないようなものもあるので、糸状性微生物の増殖による所謂糸状性バルキングであると決定するためには、糸状性細菌の現存量を把握することが極めて重要である。また、糸状性バルキングの発生は急激であるために、実処理場での維持管理に糸状性微生物の計測は有効であると考えられる。糸状性細菌の現存量は顕微鏡観察によってイメージでランク付けを行なうことが多いが、この方法では個人差が大きいことに加え、サンプリングのかたよりや汚泥量の大小によって異なった結果を招くため熟練が必要である。Sezgin and Jenkins¹⁾、Palms and Jenkins²⁾ および Walter³⁾ は、直接顕微鏡により糸状性細菌の長さを計測し、糸状性細菌の全長が活性汚泥の沈降性と関連が深いことを報告している。しかし、この方法では検鏡に熟練と労力と長い時間を要するため、一般に用いることは困難である。河野ら⁴⁾ は顕微鏡写真装置を用いて簡便な糸状性細菌量の推定方法を提案しているが、写真の現像の時間を待たなければならないため、日常計測には向いていない。また、近年では、顕微鏡に画像解析装置を接続することにより、自動計測が可能となっている⁵⁾ が、装置は非常に高価なものであるため、大規模処理場での導入は有効であるが実験室規模では用いることは困難であろう。

一方、糸状性細菌が沈降性を悪化させる機構に関しては、糸状性細菌がフロックから突出するためであるといわれている⁶⁾ が、糸状体長とSVIの関係はばらつきが大きく、定量的な評価はなされていない。糸状性バルキング汚泥は汚泥処理での濃縮性が悪いことも経験的に知られている。糸状性細菌が多く増殖した活性汚泥の沈降後の上澄濁度が小さいことから糸状性細菌はフロックの骨格となって凝集性を改善していることが指摘されているが、糸状性細菌が骨格となった場合にフロックの形状が変わりそのことが沈降性に影響することが考えられる。糸状性細菌の現存量と汚泥の沈降性、凝集性、濃縮性の関係ならびにフロック形状の関係を明らかにすることにより糸状性細菌の活性汚泥内での役割を明確にすることが重要である。また、バルキングの発生が急激である理由を説明するためには活性汚泥内での糸状性細菌の増殖速度を調べることも重要であろう。

本研究では、顕微鏡とビデオモニターおよびパーソナルコンピューターを用い、実験室レベルで短時間に簡単に行える糸状体長の測定方法を開発し、種々の活性汚泥に適用した^{6),7),8),9),10)}。第2節ではその測定方法について述べる。第3節では、種々の活性汚泥の糸状体長およびフロック形状と沈降性、圧密性、濃縮性、凝集性の関係について検討を

行うとともに、糸状性細菌の活性汚泥中での役割を推定する。第4節では、本方法を用いて活性汚泥中での糸状性細菌の増殖速度の測定を行った結果を報告し、糸状性細菌量の適切な管理基準を提案する。

第2節 顕微鏡—ビデオモニターシステムを用いた 糸状体長およびフロック形状の測定方法

2.1 糸状体長の測定方法

Fig. 2. 1に示すような3種類の計測システムを用いた。システム1は顕微鏡、ビデオカメラおよびモニターテレビから構成されており、システム2は位相差顕微鏡、カラービデオカメラおよびカラーモニターテレビから構成されている。これらのシステムでは、トレース用紙をモニターテレビ画面上にのせ、画面上に写し出された糸状性細菌をキルビメータでなぞることにより長さの計測を行った。システム3はシステム2にパーソナルコンピュータを接続したものであり、ライトペンによってデーターを入力し、その長さを計算した。計測方法の詳細はAPPENDIX Iに記載した。計測に際し、活性汚泥を無希釈で用いた場合測定に多くの時間を要するばかりでなく、フロックが密集し糸状性細菌が絡み合うため計測が困難である。そのため、適当に希釈する必要が生じてくる。この時1段階で希釈しようとする、一度にはかりとる量が非常に少なく、活性汚

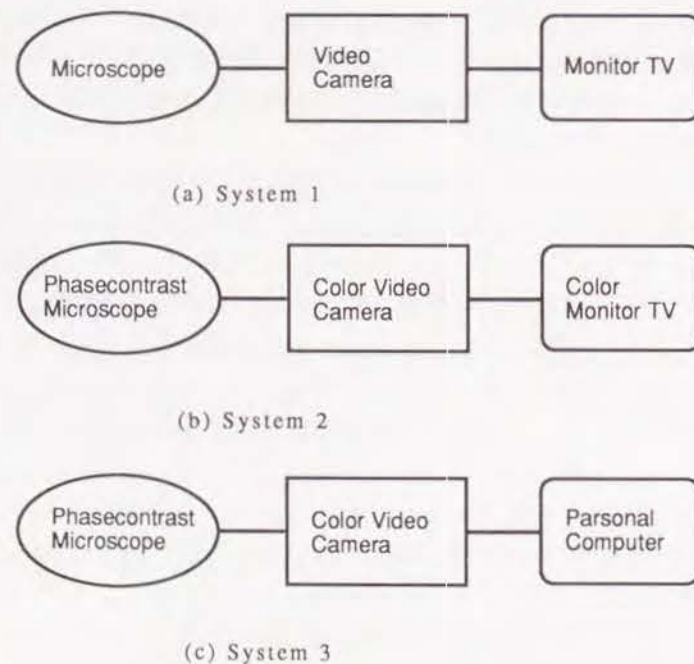


Fig. 2.1 Measuring system of filamentous length.

泥のような分散状態の溶液の場合には誤差の原因となる。そこで、一度にはかりとる量を50mL以上として、多段階希釈を行った。この際フロックを破壊することなしに汚泥を均等に分散させるために、ジャーテスターを用いた。ジャーテスターにより、30~40rpmで攪拌しながら、100mLのメスシリンダーで汚泥を計り取り、1,000 mLの印を付けたビーカー中で蒸留水を用いて順次希釈し、最終倍率を25~1,000倍とした。このときの攪拌の速度勾配(G値)は9.8~15.1 (1/sec)であり、曝気槽内のG値85/sec前後よりも十分小さな値であることから、フロックの破壊も凝集もないと考えられる。また、トレーサーとしてメチレンブルーを投入した結果、約30秒で均質になり、汚泥も均質に分散していることが観察されたため、攪拌速度は適当と考えられる。適当な希釈倍率を検討するために、種々の活性汚泥 (MLSS=480~3,630mg/L) について25、30、100 および200 倍の希釈倍率で糸状体長の測定を行い、測定値のばらつきと測定に要する時間について検討を行った。その結果、サンプリングから希釈、計測まで含めた全測定時間は25倍および30倍程度では4~6時間と長く、日常計測としては不可能であるため採用できなかった。100倍では平均2.7時間、200倍では平均1.7時間と1時間程度の差があった。Table 2.1は、システム1を用いて、100倍と200倍で測定を行った場合のスライドガラス間の変動係数を示したものである。変動係数は平均で0.155程度の差があり、100倍の方が幾分測定精度が向上することがうかがえる。システム2を用いた場合は200倍で変動係数は0.854(0.158~1.768)と精度の向上が認められた。Fig. 2.2はシステム2を用いて200倍希釈で測定を行った場合の1スライドガラス当たりの糸状体長とスライドガラス間の変動係数の関係を示したものである。また、Fig. 2.3は同一の測定結果についてMLSSと変動係数

Table 2.1 Coefficient of variation of filamentous length in a slide glass when activated sludge was diluted to 100 times and 200 times.

100 Times			200 Times		
Mean Value X	Standard Deviation S	Coefficient of Variation S/X	Mean Value X	Standard Deviation S	Coefficient of Variation S/X
96.9	67.4	0.696	59.7	62.3	1.043
246.5	198.6	0.806	52.4	36.3	0.694
87.4	120.3	1.381	34.3	32.0	0.931
415.0	322.3	0.777	72.4	99.5	1.342
341.1	212.2	0.676	20.8	23.9	1.149
108.4	80.1	0.739	98.9	95.4	0.946
171.8	63.3	0.368	50.3	39.1	0.777
199.1	174.6	0.877	122.5	126.6	1.034
167.4	233.4	1.395	202.0	130.0	0.644
174.3	93.9	0.539	269.4	278.1	1.033
			118.9	72.4	0.609
			84.5	107.4	1.271
			102.8	88.9	0.865
			127.7	224.0	1.754
0.853			1.008		

の関係を示したものである。両図より変動係数はMLSSには影響されず1スライドグラス当たりの糸状体長によって変わることがわかる。1スライドグラス当たりの糸状体長が長ければ長いほど精度は良くなるが、それだけ測定時間を要し、両者は相反する関係となる。1スライドグラス当たりの糸状体長がテレビ画面上の直接測定値100cm以上で殆どの測定結果が変動係数1.0以下となっていることから、200倍を標準として、1スライドグラス当たりの糸状体長が100cm以下の場合は100倍またはそれ以下に希釈倍率を下げ、沈降性の悪い汚泥では200倍を標準として、1スライドグラス当たり100cm以下とならない程度までさらに希釈することとした。しかし、糸状性細菌の殆ど存在しない汚泥もあるので、1スライドグラス当たりの糸状体長を100cm以上とするためにむやみに希釈倍率を下げる必要はないであろう。

n個のスライドグラスより得られた値 X_1, X_2, \dots, X_n より、平均値 \bar{X} と不変分散 S_v を求める。希釈が正確に行われ、均等にサンプリングが行われたと考え、n個の値は母集団から任意抽出したものと考えられる。母集団が正規分布をすると仮定すると、1mL中の総計推定量は次のようになる。

$$L = \frac{1}{T} \times \frac{1}{0.4267} \times D \times \frac{2n}{V} \times \left[\bar{X} + t(n-1, \alpha) \times \frac{S_v}{n} \right]$$

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^n X_i / n,$$

$$S_v = \sum_{i=1}^{2n} (X_i - \bar{X})^2 / (n-1)$$

T: モニターテレビ上の倍率

D: 希釈倍率

V: 2n滴下に要した
サンプル容量

ところで、この推定は、母集団が正規分布をしているという仮定のもとで行っているが、その仮定が正しいかどうかの検定を実際の測定値を用いて行った。測定は、同一の試料について数回繰り返すのが望ましいが、それには多大の時間を要することに加え、微生物試料の時間的変化が懸念される。そこで、同時期に採取した糸状体長平均値が同程度の試料を同一の母集団から抽出したもの

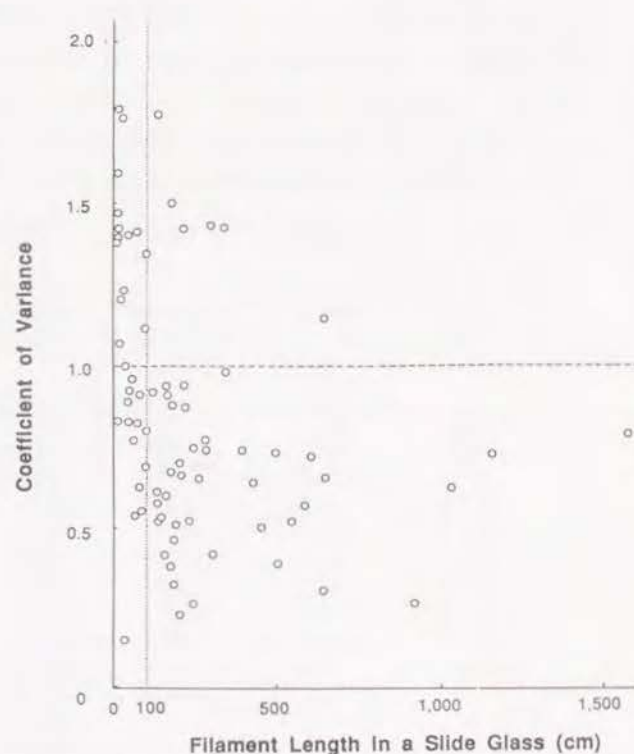


Fig. 2.2 Relationship between mean value and coefficient of variance of filament length in a slide glass.

と考えて、正規分布および対数正規分布に対する適合度の検定を行った。一例として平均糸状体長10,000cm/mLの試料の検定結果をFig. 2.4およびTable 2.2に示す。計算した χ^2 値は正規分布で10.72、対数正規分布で57.63となり、自由度 $f=11-3=9$ 、優位水準 $\alpha=5\%$ に対する χ^2 値16.92であることから、正規分布に適合していると判断できる。検定は平均糸状体長が3,100 cm/mLの試料についても行ったが、同様に優位水準5%で正規分布に適合していた。以上のことより、前述の推計値で活性汚泥1mL中の糸状体長を求めることができると考えられる。

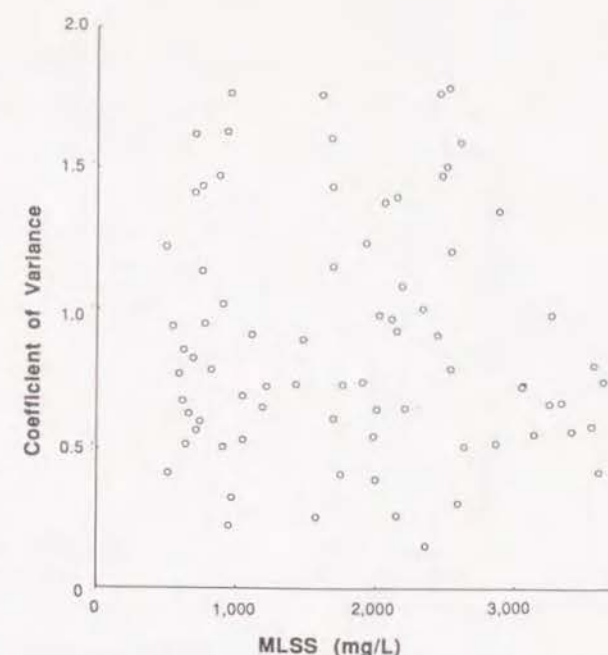


Fig. 2.3 Relationship between MLSS and coefficient of variance of filament length in a sludge glass.

Table 2.2 Chi-square test of goodness of fit for the distribution of filamentous length of bacteria.

Interval x103 (cm/mL)	Observed Frequency f	Expected Frequency F (f-F)/F			
		Gaussian	Log-normal	Gaussian	Log-normal
- 2	3	7.03	12.21	2.31	6.95
2- 4	7	5.75	14.33	0.27	3.75
4- 6	12	8.27	11.09	1.68	0.07
6- 8	11	10.53	7.95	0.02	1.17
8- 10	15	11.92	7.00	0.80	9.14
10- 12	13	11.92	4.93	0.10	13.21
12- 14	8	10.53	4.05	0.61	3.85
14- 16	8	8.27	2.65	0.01	10.80
16- 18	2	5.75	3.30	2.45	0.51
18- 20	2	3.53	1.80	0.66	0.02
20-	6	3.94	18.18	1.81	8.16
	87	87.00	87.00	10.72	57.63

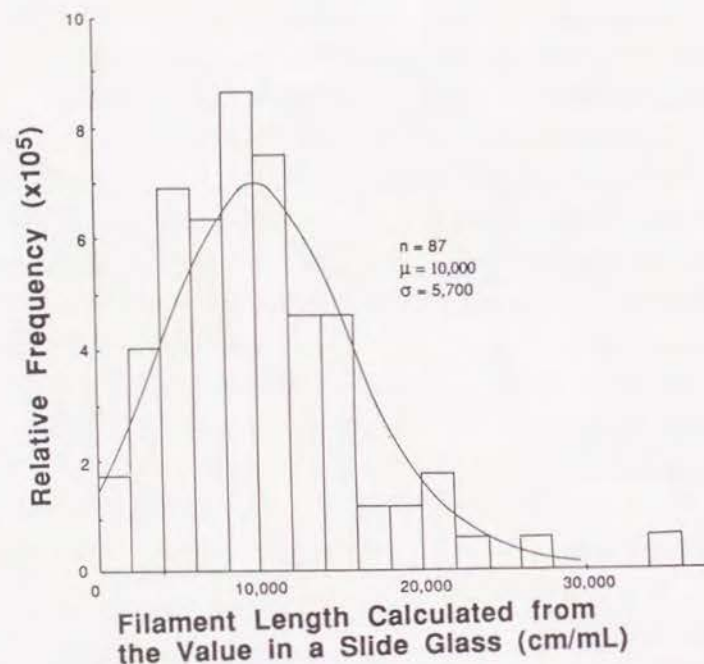


Fig. 2.4 Distribution of filament length in a slide glass.

2. 2 フロック径の測定方法とフロック形状の評価方法

フロック径の計測には、内容積 1 mL の枠付スライドグラスを用い、システム 2 の装置により写し出された投影図をトレースして、デジタイザーによって、周長、長径および投影面積の計測を行った。1 スライドグラスにつき 15 個程度のフロックが含まれた場合、総投影面積のスライドグラス間のばらつきが小さくなる傾向が認められ、1,000 倍程度の希釈倍率で 15 個程度の含まれる場合が多かったため、希釈倍率は 1,000 倍を採用した。測定方法の詳細は APPENDIX II に示した。

Fig. 2.5 は 4 種類の活性汚泥試料のフロック径について、等投影面積球として求めた径の分布を示したものである。 χ^2 検定の結果、フロック径の分布は正規分布に適合していた。一方、等投影面積球として求めたフロック体積については、正規分布に適合しなかった。このことより、フロックの大きさの指標としては等投影面積球として求めたフロック径を用いることとした。

フロックはいびつな形をしており、その形状を評価するのは、非常に難しい。本研究では、フロックを球に近いものと仮定して、Waddeln の実用球径度および円形度を用いてフロック形状の特徴を定量化することとした。実用球径度および円径度は以下の式で計算できる。

$$\text{実用球径度} = \frac{\text{等投影面積球として求めた径}}{\text{長 径}}$$

$$\text{円 径 度} = \frac{\text{等投影面積球として求めた円周}}{\text{周 長}}$$

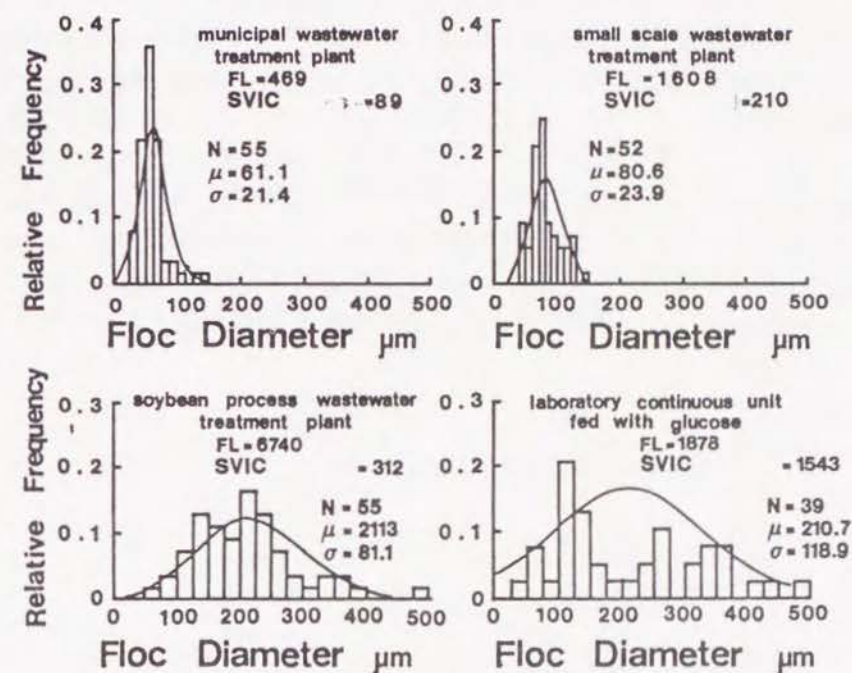


Fig. 2.5 Distribution of floc diameter.

第3節 糸状性細菌の活性汚泥性状に及ぼす影響

3.1 沈降性に及ぼす影響

SVIは沈降性の指標として一般的に用いられているものであるが、多くの欠点があることが指摘されている。Fig. 2.6は食品工場廃水処理施設、都市下水処理場、団地下水処理場から採取した活性汚泥および室内培養の活性汚泥について、MLSS 1 mg当たりの糸状体長とSVIの関係を示したものである。糸状体長 10^3 cm/mgまではSVIは低く安定しているが、それを越すと急激に悪化することがわかる。Sezgin and Jenkins⁹⁾は糸状体長 10^7 μ m/mg以上で沈降性が悪化すると報告しており、本結果はほぼ一致している。図中の黒印は糸状性微生物のうち菌類が10%以上を占めたものであるが、同一糸状体長でもSVIが大きいものも多く、糸状菌の沈降性に与える影響が糸状性細菌よりも大きいことがうかがえる。しかし、実処理場で菌類が優勢に増殖してバルキング状態となることは稀であるため、本研究では糸状性細菌のみを対象とすることとする。糸状菌が殆ど存在しない汚泥についても、糸状体長 10^3 cm/mg以上の両者の間に相関性はほとんど認められない。これはSVIに対するMLSSの影響と考えられる。図中の印をSV₃₀によって3段階に分けてある。△印はSV₃₀が0~30%のもの、○印は30~80%、□印は80~100%のものを示している。糸状体長 10^3 cm/mg以上では、△印は殆どなく、○印はSVIが高く、□印はSVIが低く現れることがわかる。

MLSSの影響を調べるために、各種汚泥を数段階に希釈して沈降曲線を描いて解析を行った。この

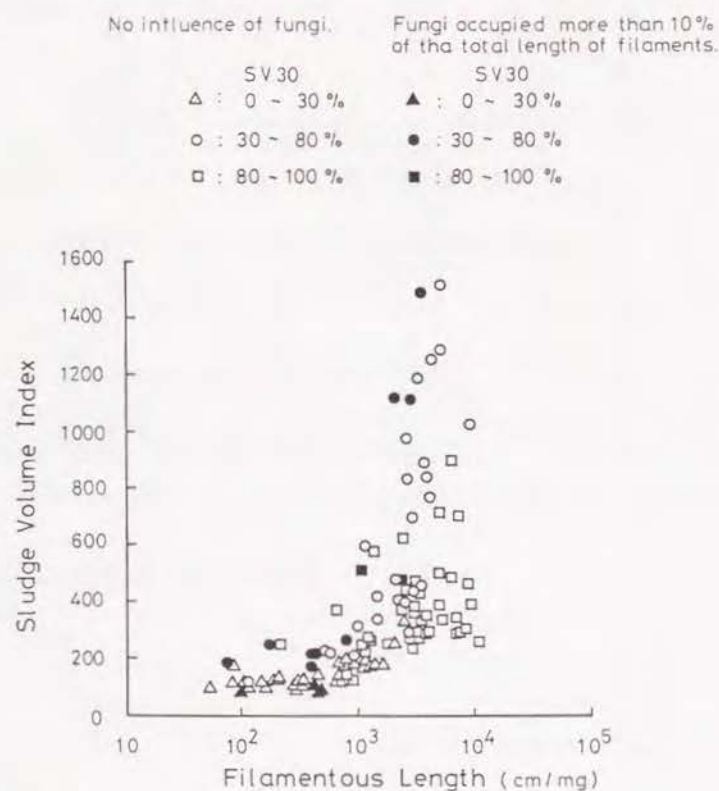


Fig. 2.6 Relationship between SVI and total length of filamentous microbes with classification of SV₃₀ and influence of fungi.

際、一度沈降した汚泥を再度混合して沈降させた場合のSV₃₀の変化を調べた結果、5回の繰り返し測定によってもSV₃₀は殆ど変化しないことが確かめられたため、汚泥の不足した場合には沈降した汚泥をふたたび希釈して測定に用いた。Fig. 2.7は、各汚泥についてMLSSとSV₃₀の関係を示したものである。MLSSが増大するとSV₃₀が増大するが、糸状体長がSV₃₀の増大に大きく影響していることがわかる。それぞれの曲線は次の3つの相に分けることができる。第1相はSV₃₀が0~30%の範囲であり、SV₃₀とMLSSは直線関係にある。第2相のSV₃₀が30~80%ではSV₃₀が急激に増大する。第3相のSV₃₀が80~100%ではSV₃₀は100%に漸近する。このことは、河野¹²⁾も指摘しているように、30分沈降後の汚泥界面がどのような状態にあるかによって決まってくる。第1相の汚泥は30分沈降後には界面沈降を経て圧密期に入っており、第2相の汚泥は界面沈降期または遷移期にある。また、第3相の汚泥は最初から圧密期の様な様相を呈してゆっくり沈降するものである。Fig. 2.8中の実線はSV₃₀、MLSSとSVIの理論的關係と、Fig. 2.6で得られた結果を基に糸状体長をパラメーターとした曲線を描いたものである。本図中ではSVIは原点からの直線として描かれる。同じ糸状体長を持つ汚泥でも、第1相ではSVIはMLSSに左右されずに一定であるが、第2相ではSVIは増大し、第3相では減少していく事がわかる。前述したようにSV₃₀が30%以下の汚泥は30分以内に圧密期に入っていたため、第1相即ちSV₃₀が30%以下で求めたSVIは圧密状態での汚泥容量指標と考えられる。そこで、汚泥を2倍に希釈していき、初めてSV₃₀が30%を切った時のSVIを汚泥の圧密性に関する指標SVIC (Sludge Volume Index in Compression Process, SVI at Phase I)と定義し、SVIとともに求めることとした。この値はMLSSによって変動しないため、種々の汚泥の圧密性の指標として用いることができる。SVICの計算方法は以下の通りである。

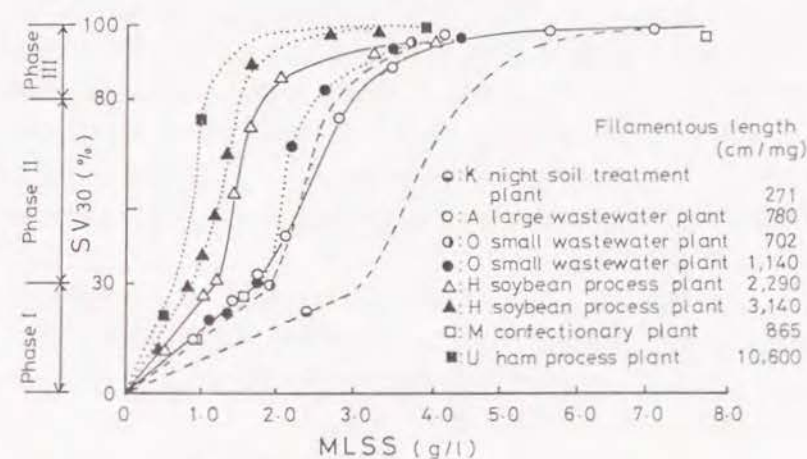


Fig. 2.7 Relationship between SV₃₀ and MLSS with the parameter of filamentous length of bacteria. SV₃₀ is classified into three groups; Phase I, II, and III.

$$SVIC = \frac{SV_{30}^* \times 10^4 \times 2^n}{MLSS}$$

2^n : 希釈倍率
 SV_{30}^* : SV_{30} が30%を切った時の SV_{30}

Fig. 2.9は糸状体長とSVICの関係を示したものである。データは150以上の活性汚泥から得られたものである。両者の間には強い相関性があり、SVICが 10^3 cm/mg以上で沈降性が悪化することがわかる。このことより、フロックから突出した糸状性細菌が圧密状態においてフロック同士の接近を妨げることにより沈降性を悪化させるものと考えられる。グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて嫌気好気回分式活性汚泥法によって運転を行ったA-O Batch Systemの汚泥を除けば、活性汚泥の種類による沈降性の差異は殆ど認められなかった。A-O Batch Systemでは*Beggiatoa* sp. が優勢に増殖しており、その他の沈降性の悪い汚泥中には、主に*S. natans* やType 021N が優勢に増殖していた。このことより、フロックから突出して増殖する*S. natans* やType 021N は、フロック同士の接近を妨げるため沈降性に与える影響は同程度であるが、フロックから遊離して増殖する*Beggiatoa* sp. は、その効果が小さいものと考えられる。Fig. 2.10は、各種汚泥の等速沈降速度ZSV (Zone Settling Velocity)とMLSSの関係を示したものである。MLSSが大きい時は汚泥は殆ど沈降せず、MLSSが小さくなると等速沈降が始まり、急激に沈降速度が増大する。また、糸状体長が短い汚泥では沈降速度が遅いことがわかる。Fig. 2.11は、同様の汚泥について、MLSSと30分沈降後の上澄水の濁度および再凝集時間RT (Reflocculation Time) の関係を示したものである。再凝集時間は試験シリンダー内で界面沈降が始まるまでに要する時間を表しており、汚泥の凝集性の一指標となると考えられる。一方、上澄水の濁度は30分沈降後のメスシリンダー内の上澄水をコマゴメビペットで採取して濁度計によって測定したものであり、沈降性のコントロールの点では非常に重要である。MLSSが3,000mg/L以上ではその上澄水の量が少なく、界面が乱れることによって見掛け上値が大きく現れている。MLSSが3,000mg/L以下では、MLSSが小さくなると濁度は減少している。また、糸状体長が短い汚泥の方が濁度は大きいことがわかる。汚泥Uと汚泥Hが逆転しているが、これは汚泥Uに優勢に増殖していた糸状性細菌が*Hariscomenobacter* sp. であり、一本の長さの短いものであったのに対し、汚泥H中の糸状性細菌はType 021Nであり、一本の長さが非常に長いものであったことによると考えられる。即ち、糸状性細菌が汚泥の凝集性を改善する役割を果たしているが、その効果は一本の長さの長い糸状性細菌の方が大きいものと考えられる。一方、再凝集時間のグラフは山形を示しており、糸状性細菌による明確な影響は認められないが、糸状性細菌の多い汚泥の方が再凝集時間が短い傾向が認められた。上澄濁度も再凝集時間も、必ずしも糸状体長の順にはなっておらず、その他の性質も関係していると考えられるが、糸状性細菌は汚泥の凝集性の改善に影響していると考えられる。

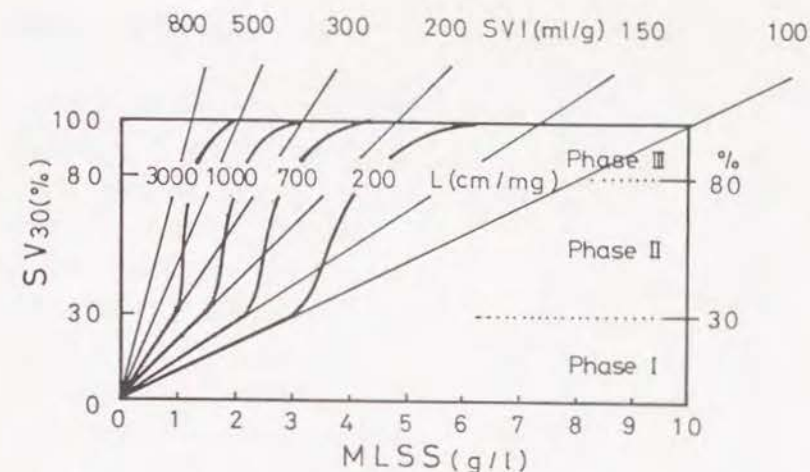


Fig. 2.8 Theoretical relationship between SV_{30} , MLSS and SVI and the parameter of filamentous length L .

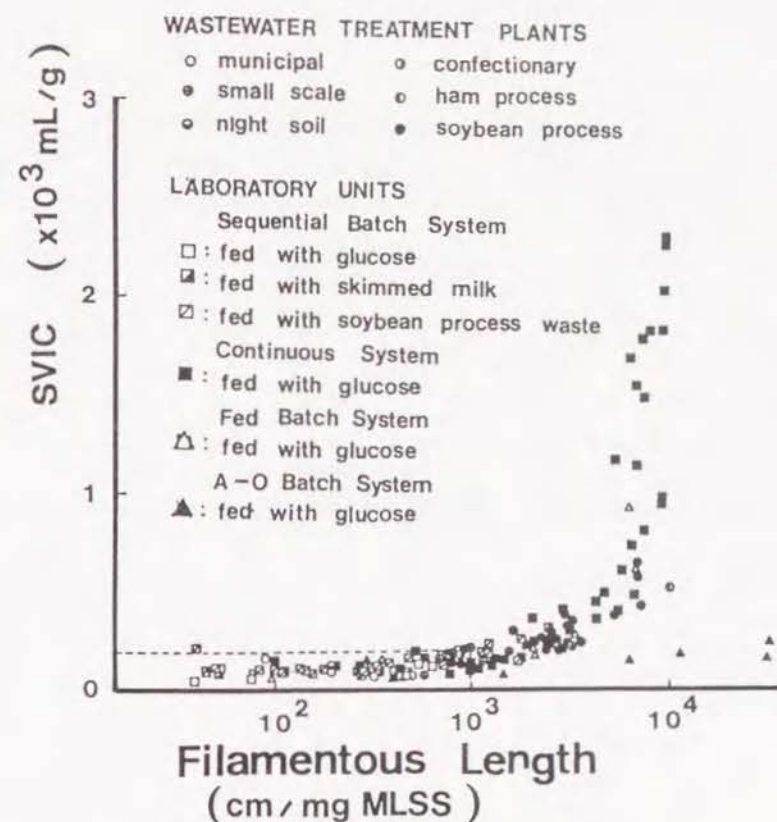


Fig. 2.9 Relationship between SVIC and filamentous length.

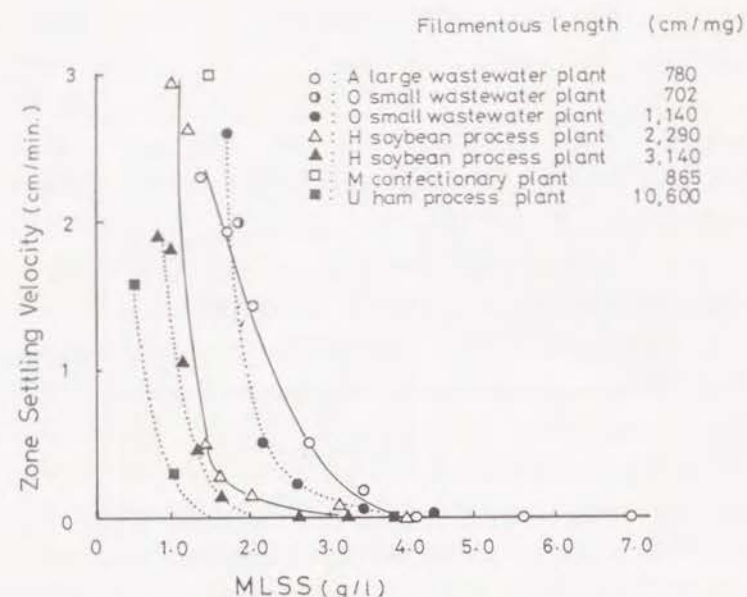


Fig. 2.10 Relationship between zone settling velocity and MLSS and the parameter of filamentous length.

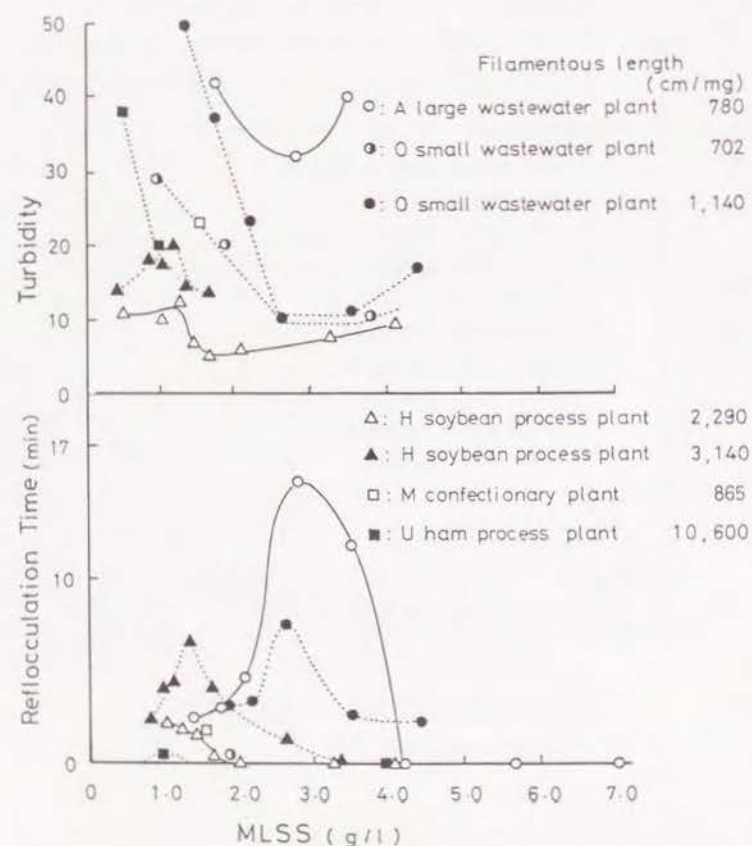


Fig. 2.11 Relationship between Turbidity and MLSS, and Reflocculation Time and MLSS with the parameter of filamentous length.

3. 2 濃縮性に及ぼす影響

糸状性微生物の現存量の異なる2種の活性汚泥（基礎汚泥）をほぼ等しいMLSS濃度に調整し、任意の割合で混合することによって、数種の汚泥を調整した。実験に用いた汚泥の特徴をTable 2.3に示す。それぞれの混合汚泥について、20℃の恒温室内で沈降試験を行い、SVI、SVIC³⁾（希釈により、SV₃₀を30%以下にして求めたSVI）、界面沈降速度、および30分沈降後の上澄み濁度を求めた。別に40 mLの汚泥を沈殿管に採り、高速遠心分離機を用い、遠心力900、1,800、2,700、4,500、および9,000 Gで5分間遠心分離を行った。沈殿容量は別に作成しておいたFig. 2.12の検量線から求めた。

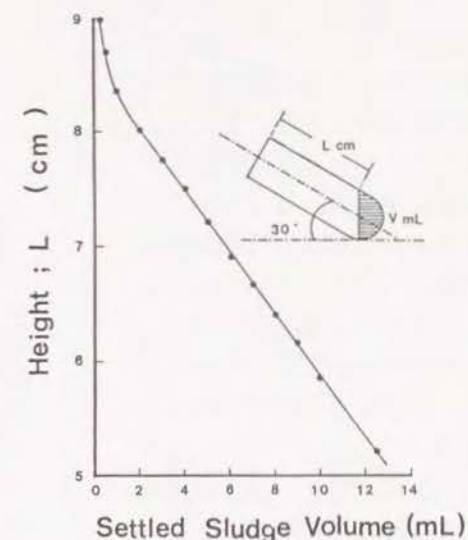


Fig. 2.12 Height versus volume line to calculate the volume of sediment with the centrifugal test.

Table 2.3 Activated Sludge Samples used in the centrifugal tests.

Test No.	Activated Sludge	Plant	MLSS (mg/L)	SVIC (mL/g)	Filamentous Length (cm/mg MLSS)	Mean Floc Size (μ m)
Test I	Bulking Sludge	O	3920	180	1570	below 40.0
	Non-bulking Sludge	H	4110	127	913	61.6 \pm 40.9
Test II	Bulking Sludge	H	530	1130	6870 \pm 2086	97.3 \pm 25.7
	Non-bulking Sludge	A	800	69	555 \pm 302	72.7 \pm 25.0
Test III	Bulking Sludge	H	900	800	5260 \pm 5960	296.0 \pm 185.6
	Non-bulking Sludge	A	900	89	469 \pm 125	61.6 \pm 21.4

O: small scale wastewater treatment plant, A: municipal wastewater treatment plant, H: soybean process wastewater treatment plant.

Fig. 2.13 は、実験結果の典型的な一例として、実験2の場合の遠心力と沈殿汚泥濃度の関係を示したものである。遠心力が大きくなると沈殿汚泥濃度が大きくなっている。また、糸状性微生物の現存量の多い汚泥の方が同じ遠心力でも沈殿汚泥濃度が小さい、即ち濃縮性が悪いことがわかる。実験1及び3でも同様な結果が得られた。Fig. 2.14 は、3種の実験の糸状体長と沈殿汚泥容量の関係を示したものである。ここで、SVICは自然沈降時の値であり、遠心力1Gのときの沈殿汚泥容量と考えられる。SVICは、糸状体長によって大きく変化しており、前述したように糸状性微生物の沈降性に与える影響が強いことがわかる。これは、フロックから突出した糸状性微生物がフロック同士の接近を妨げることによるものと考えられる。一方、遠心力をかけても、糸状性微生物の多い汚泥の方がやはり沈殿容量が大きくなっている。9,000 Gの遠心力では汚泥は殆ど沈殿管の底部に濃縮されて付着しており、図中の沈殿容積の差は基礎汚泥間の密度の差により生じていると考えた方が妥当であろう。しかし、900 Gの弱い遠心力をかけた場合には、9,000 Gの場合よりも糸状性微生物の現存量に対する沈殿汚泥容量の関係を表す直線の傾きが大きく

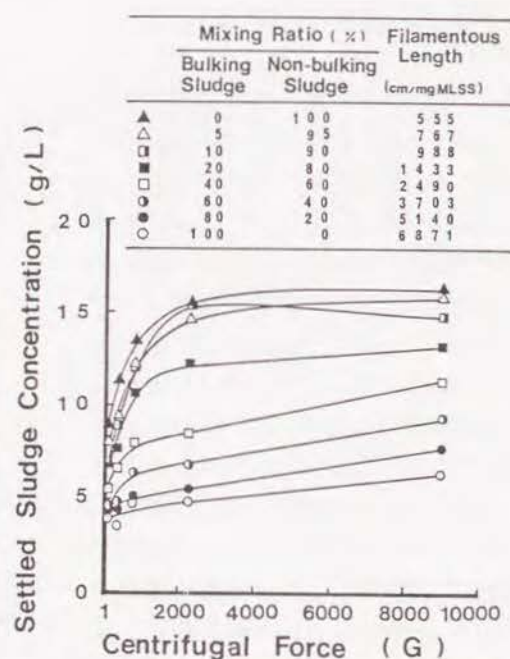


Fig. 2.13 Results of centrifugal test II.

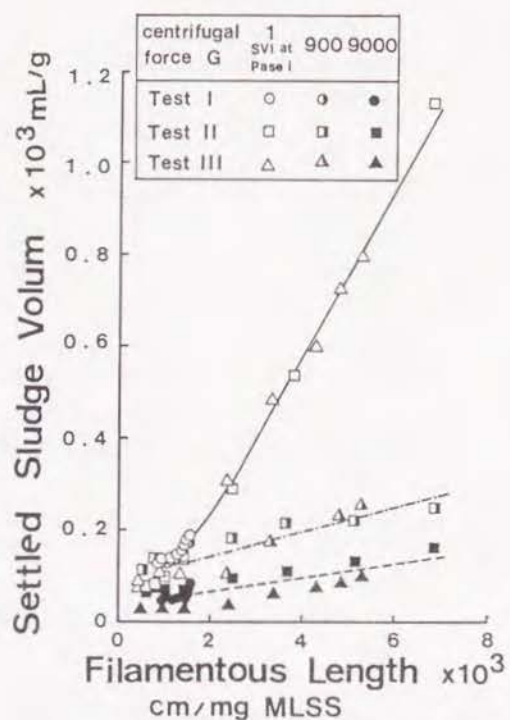


Fig. 2.14 Relationship between filamentous length and settled sludge volume in centrifugal tests.

なっており、糸状性微生物の現存量が明らかに沈殿汚泥容量に影響を与えていた。即ち、糸状性微生物の存在が遠心力に対して抵抗力を示していると考えられる。しかし、遠心力をかけることにより、フロックから突出した糸状性微生物はもはやフロック同士の接近を妨げる役割を果たすことはできないと考えられるため、糸状性細菌はフロック内部の構造をも変化させているのではないかと推察した。

一方、Fig. 2.15 は糸状体長と上澄み濁度の関係を示したものである。糸状性微生物の多い汚泥の方が濁度が小さい傾向が認められる。糸状性微生物が汚泥の凝集性を改善する機構として、Sezgin and Jenkins¹³⁾が指摘しているように糸状性微生物がフロックの骨格となることで凝集性の良いフロックを形成することと、沈降時に糸状性微生物がフロック間の橋掛けを行い分散状のフロックを巻き込むことによる効果の二点が考えられる。図中の直線は基礎汚泥の上澄み濁度を結んだ線であり、上澄みが混合されることにより、単に薄まった場合の理論値である。この理論値よりも上澄み濁度が小さい場合には、後者の効果が含まれているものと考えられる。しかし、その効果は実験2の場合に僅かに認められたのみであった。このことより、糸状性微生物による凝集性改善の効果は、糸状性微生物がフロック自身の構造を変化させることによるものが大きいと考えられる。

以上より、糸状性微生物の増殖はフロックから突出することによって沈降性を悪化させる以外に、フロックの内部構造を変化させていると考えられた。

3. 3 フロック形状に及ぼす影響

Fig. 2.16 は糸状体長と平均フロック径の関係を示したものである。図中、縦線で示した範囲は±標準偏差を示している。糸状性微生物が非常に少ない汚泥 (10^2 cm/mg MLSS 以下) では、フロック径が極端に小さく分散増殖に近い状態で計測不可能なものと、図中にプロットしたようなフロック径の非常に大きいものがあった。後者は高粘性バルキングの状態にあり、沈降性が悪いものであった。糸状体長が $10^2 \sim 10^3$ cm/mg MLSS の場合には、フロック径は $100 \mu\text{m}$ 程度で、そのばらつきは小さかった。糸状体長 10^3 cm/mg MLSS 以上になると、フロック径が大きくそのばらつきの大きい汚泥が多くなっている。

Fig. 2.17 および Fig. 2.18 は糸状体長とフロックの平均実用球形度および平均円形度の

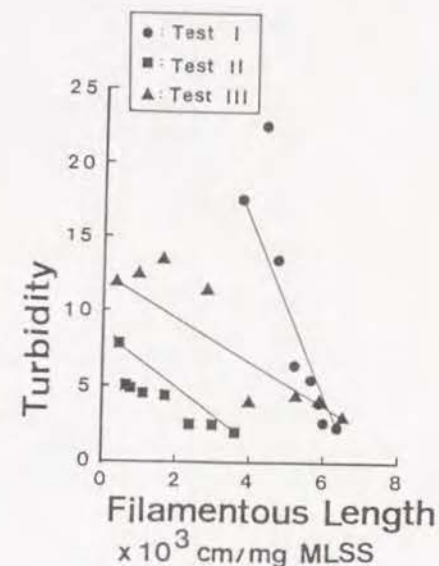


Fig. 2.15 Relationship between filamentous length and supernatant turbidity.

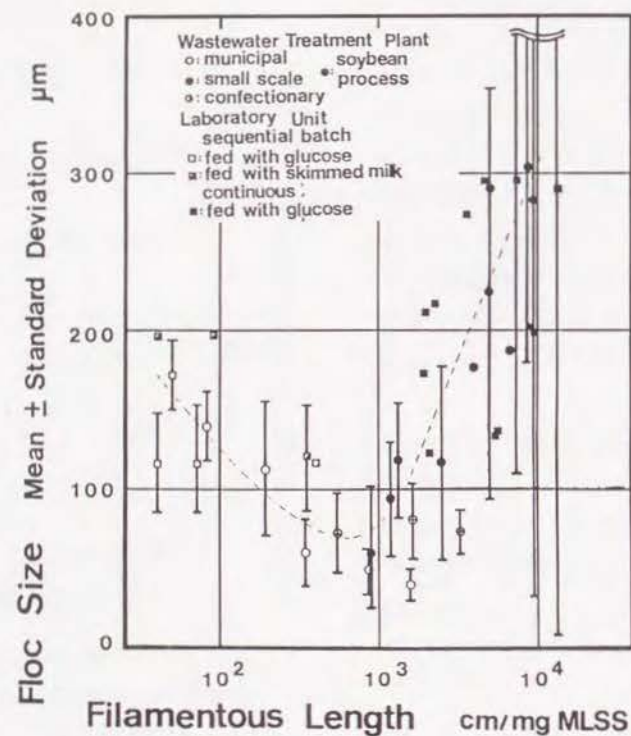


Fig. 2.16 Relationship between filamentous length and floc size.

関係を示したものである。計測の結果より、正常な沈降性を持つ活性汚泥フロックの実用球形度は約0.7、円形度は約0.8程度であるが、糸状性微生物が増加するにつれ、球形度、円形度が小さくなる傾向があることがわかる。実用球形度はフロックの長径と短径の差を大きく評価し、円形度はフロック表面の凹凸を大きく評価する指標であると考えられる。顕微鏡観察でも特に *Sphaerotilus natans* のようなフロックから突出する糸状性細菌が増殖した場合、フロックが糸状性細菌を軸としていびつに増殖することが観察された。表面積を評価する球形度を用いれば、糸状性細菌の増殖した場合の形状の変化がより大きく評価できたものと考ええる。

以上のことより、糸状性微生物の増殖により、フロックは糸状性微生物を軸にして膨化し、時にはいびつな形に変化することが示された。大きなフロックは粘性物質を多く含むため、沈降性が悪いと考えられる。また、フロックの形状がいびつな場合は、フロック同士の接近が妨げられて、沈降圧密のみならず遠心濃縮性をも悪化すると考えられる。

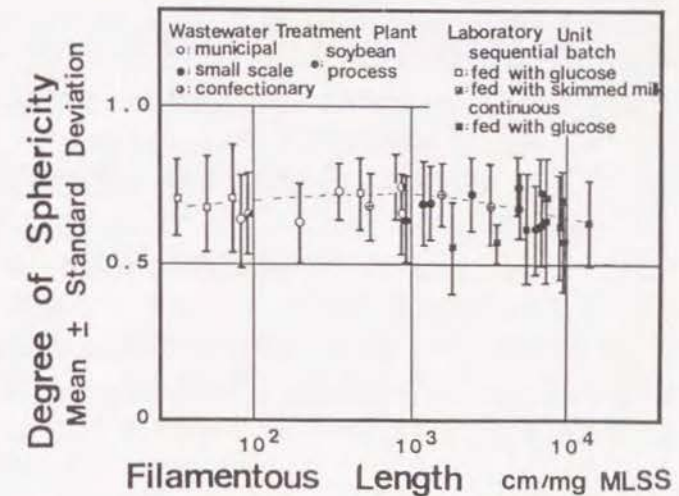


Fig. 2.17 Relationship between filamentous length and degrees of sphericity of floc.

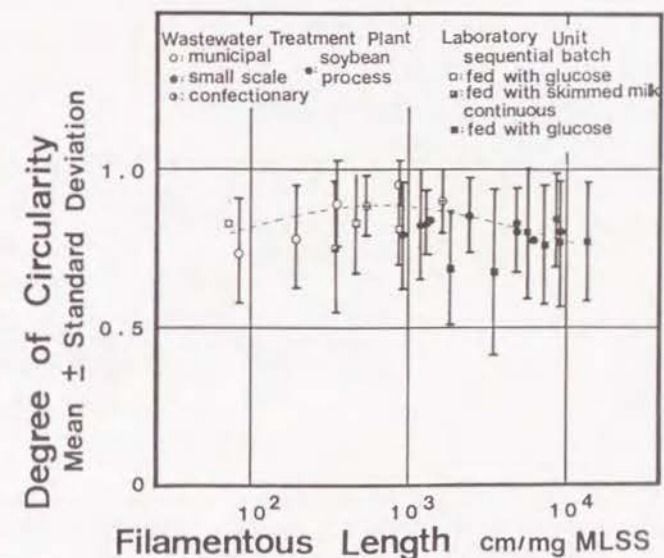


Fig. 2.18 Relationship between filamentous length and degrees of circularity of floc.

3. 4 糸状性細菌のフロック形成に果たす役割

糸状性細菌のフロック形成に対する役割についてFig. 2.19 にまとめた。糸状性細菌が非常に少ない (10^2 cm/mg MLSS以下) 場合には、正常なフロックが形成されない場合が多い。細菌は分散状態で増殖したり、ピンポイントフロックの状態では沈降後の上澄み水中に微細な粒子が残存する。このような場合には、処理水の濁度が増加し水質も悪化する結果となる。時には、細胞外に粘性物質を多く蓄積して、凝集性が良好となることもあるが、この場合には、汚泥の沈降性も悪化するいわゆる高粘性バルキング状態となる場

合が多い。一方、糸状性細菌が $10^2 \sim 10^3$ cm/mg MLSSで存在する場合には、糸状性細菌がフロックの骨格となり、凝集性の良い正常な汚泥が形成される。その径は、ほぼ $100\mu\text{m}$ で球に近い形状をしている。SVICは $100 \sim 200\text{mL/g}$ 程度と沈降性は良好で、汚泥処理の際の濃縮性も良い場合が多い。糸状性細菌が 10^3 cm/mg MLSS以上に増殖すると、汚泥の凝集性はさらによりよくなり、処理水の濁度は減少するが、糸状性細菌がフロックの外に長く突出しフロック同士の接近を妨げることににより、沈降性が悪化することによって、汚泥の流出をまねく。糸状性細菌の周りに細菌が増殖することにより、より大きく歪な形状のフロックが形成され、遠心濃縮性も悪化する結果となる場合が多い。

以上のことより、糸状性細菌は $10^2 \sim 10^3$ cm/mg MLSS程度で存在すれば、沈降性、濃縮性共に良好で、かつ凝集性が良好で清浄な処理水を得ることができる場合が多いので、糸状性細菌量をこの範囲に維持することが好ましいと考えられる。

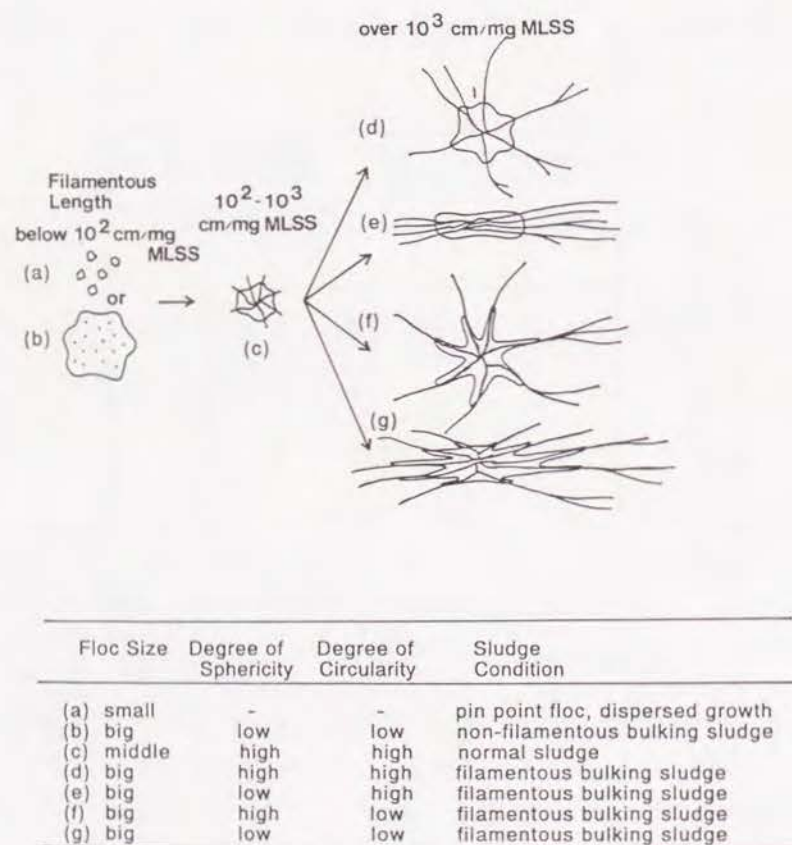


Fig. 2.19 Role of filamentous bacteria for floc formation.

第4節 糸状性細菌の増殖速度の測定

4.1 糸状性細菌の増殖速度の測定方法

グルコースおよびペプトンを主体とする人工廃水を用いて、Fig. 2.20 に示すような完全混合連続式の活性汚泥装置の運転を行った。運転は夏期（水温 24°C ）と冬季（水温約 14°C ）の2回行った。両者とも実験開始時には、金沢市内の〇処理場より活性汚泥を採取し種汚泥とした。1日1回総汚泥量の1/5を引き抜くことにより、SVIを5日に設定し、返送率は1.0で運転を行った。

余剰汚泥を用いMLSS、SVI、SVICの測定を行った。SVICの変化の著しい場合には、糸状体長の測定を行ない、4～6時間間隔で糸状体長を測定することにより、活性汚泥培養中の糸状性細菌の増殖速度を求めた。

4.2 糸状性細菌の増殖速度と沈降性の変化

Fig. 2.21 に、夏期の運転時の汚泥の沈降性の経日変化を示す。完全混合型の装置であるため、従来から言われているように数日でバルキング状態となっている。この時に出現した糸状性微生物は主に *Sphaerotilus natans* であり、その現存量は4日間で100倍 ($0.26 \times 10^3 \rightarrow 23.9 \times$

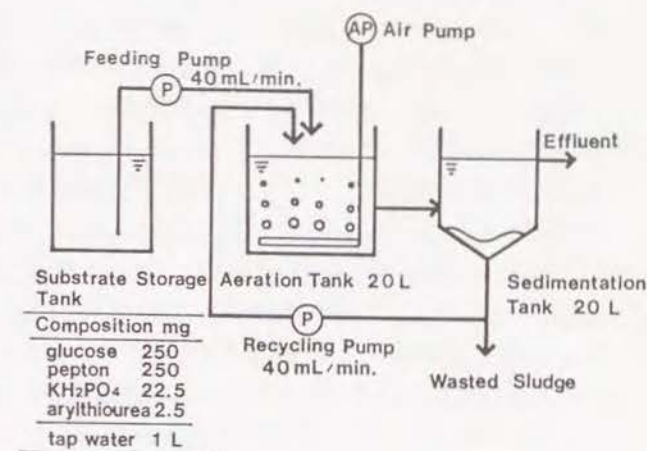


Fig. 2.20 Experimental set up and composition of artificial wastewater.

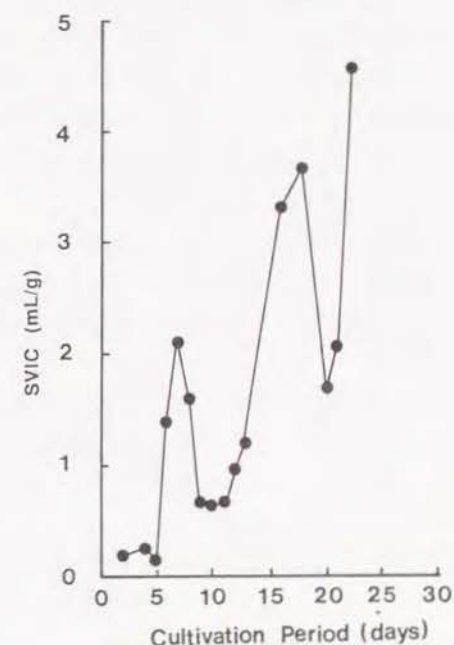


Fig. 2.21 The course of SVIC during the first cultivation of activated sludge with glucose and peptone.

10^3 cm/mg MLSS)に増大している。その後、SVICは上昇下降を繰り返しているがSVICで200を切ることは殆どなく常に糸状性細菌が多く存在していた。

このように糸状性細菌である*Sphaerotilus natans*の増殖は非常に急激であり、そのことが急激なバルキングの発生の原因になっていると考えられる。そこで、活性汚泥内での*Sphaerotilus natans*の増殖の速度を測定した。Fig. 2.22は*Sphaerotilus natans*の急激な増殖を時間単位で測定したものである。(a)図はFig. 2.21の運転開始後5日目から7日目に対応している。(b)図は、同様な条件で冬場の低水温期(14℃)に運転を行った場合の実験開始後5日目からの結果である。両図とも、増殖速度には差はあるが、糸状体長が対数的に増加していることがわかる。この結果は、*Sphaerotilus natans*は連続型の混合培養系において条件が整えば糸状体をとって対数増殖を行うことを示している。微生物は栄養を十分に与えた回分培養では、誘導期、対数増殖期、静止期、死滅期の過程をたどって成育することはよく知られている。しかし、活性汚泥処理においては、連続的に低濃度の基質が供給されるため、微生物の増殖は基質濃度に制限される。このような系で*Sphaerotilus natans*の対数増殖が確認されたことは、*Sphaerotilus natans*によりかなり選択的に基質が摂取されていることを意味すると考えられる。汚泥の引き抜きを考慮した*Sphaerotilus natans*の対数増殖期の増殖速度は次式で表される。

$$dF/dt = kF - F/SRT = (k - 1/SRT)F \quad (2.1)$$

F: *Sphaerotilus natans*の菌体濃度(mg/L)

k: *Sphaerotilus natans*の比増殖速度(1/日)

SRT: Sludge Retention Time (1/日)

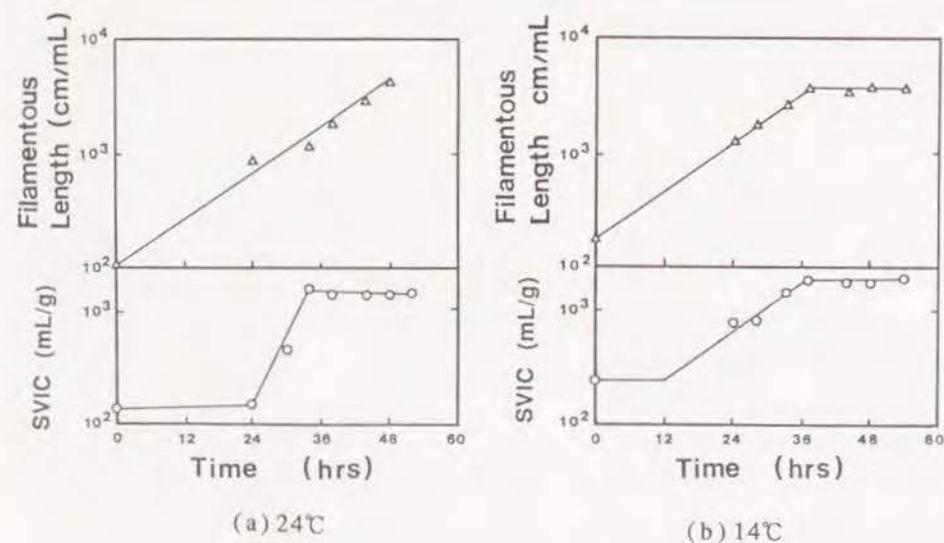


Fig. 2.22 The growth of *Sphaerotilus natans* and the change of settleability of activated sludge.

*Sphaerotilus natans*の長さをF L(cm/mL)、太さをW(μ m)、密度を ρ とすると、その菌体濃度は、

$$F = FL \times (W \times 10^{-4}/2)^2 \times \rho$$

となるが、 $(W \times 10^{-4}/2)^2 \times \rho$ は定数なので、これを(1)式に代入すると両辺で打ち消されるため、次式のようにF Lのみで表すことができる。

$$dFL/dt = (k - 1/SRT) FL \quad (2.2)$$

$\log FL$ と時間tの関係を示す直線の傾きが $(k - 1/SRT)$ となるので、比増殖速度kを糸状体長の変化から求めることができる。このようにして求めた*Sphaerotilus natans*の比増殖速度は水温に関わらず両者ともに1.0/日であった。培養開始時に*Sphaerotilus natans*がほとんど存在しなかったと仮定すると、3日間で250cm/mL程度になり、4日間で 10^3 cm/mLを越すこととなる。これは、4日目から5日目にバルキング状態となるという実験結果とよく一致している。SRT5日で運転を行なったので、比増殖速度0.2/日以下の微生物はwash outされ、定常運転になれば活性汚泥微生物全体の比増殖速度は0.2/日程度となると推定されるが、*Sphaerotilus natans*の比増殖速度はそれに対し大きな値を示している。Kohnoら¹⁴⁾は、fed-batchシステムでの*Sphaerotilus natans*の増殖は、連続的に基質を供給しているにもかかわらず、回分培養での微生物の増殖と類似しており、誘導期、対数増殖期、静止期に類似した相が存在すると述べている。さらにfed-batchシステムで、*Sphaerotilus natans*とフロック形成細菌の比増殖速度を理論的に求めた結果、増殖期には*Sphaerotilus natans*の比増殖速度(1.2/日)がフロック形成菌のそれ(0.1084/日)に比べて著しく増大することを報告している。本研究の連続培養系で得られた比増殖速度は河野らのfed-batchシステムで得られた値と近いものであった。しかし、本研究ではKohnoら¹⁴⁾の指摘した長い誘導期の存在は認められず、初期の短い誘導期の後に対数増殖を行ったと考えられた。活性汚泥中に存在する細菌類の純粋培養系での比増殖速度は1.3~59.1/日であるといわれており¹⁵⁾、*Sphaerotilus natans*のPGY培地での最大比増殖速度は0.43/hr(10.32/日)であると報告されている¹⁶⁾。本研究で得られた混合培養系での*Sphaerotilus natans*の比増殖速度はPGY培地での純粋培養系でのその1/10程度であり、混合培養系で*Sphaerotilus natans*が特に速い増殖を行った訳ではなく、条件が整ったために対数的な増殖を行ったものと考えられる。また、汚泥の沈降性は糸状体長 10^3 cm/mg MLSS付近を境にして急激に悪化しており、このことは実処理場での急激なバルキングの発生を説明するものである。バルキング状態に達してしまうと、汚泥の流出が始まり、SVICは上昇、下降を繰り返すものと考えられる。本研究では、*Sphaerotilus natans*のみの対数増殖が確認されたが、他の糸状性細菌についてもさらに検討する必要がある。

以上の結果より、活性汚泥中の糸状性細菌は、前節で指摘したように $10^2 \sim 10^3$ cm/mg MLSS程度で適度に存在させることが好ましいが、一度何らかの原因で増殖状態にはいると急激な対数増殖になり、容易にバルキングを引き起こすため、常時、糸状性細菌の現存量を把握し活性汚泥状態の管理を行うことが非常に重要であると考えられる。

第5節 結言

本章では、糸状体長の簡便な計測法を提案し、種々の汚泥に適用して糸状性細菌の役割を検討するとともに、活性汚泥内での糸状性細菌の増殖を計測した。結果は以下のようにとめることができる。

- 1) 顕微鏡-ビデオモニター装置により簡便に糸状体長を計測することができた。そのときの汚泥の希釈倍率は200倍程度が妥当であった。
- 2) フロック径の分布は正規分布に適合しており、その形状は球形度および円形度で評価することができた。
- 3) SV_{30} が30%以下にまで希釈して求めたSVIをSVICと定義した。この値は、MLSSに影響されず圧密状態での汚泥容量指標として用いることができた。
- 4) 糸状性細菌が 10^3 cm/mg MLSS 以上になるとSVICが増大することより、糸状性細菌はフロックから突出してフロック同士の接近を妨げて、圧密性を低下させることにより沈降性を悪化させると考えられた。この影響は、フロックから突出して増殖する *Sphaerotilus natans* やType021Nの方がフロックから遊離して増殖する *Beggiatoa* sp. よりも大きかった。
- 5) 糸状性細菌の増殖は、遠心濃縮性をも悪化させた。
- 6) 糸状性細菌はフロックの骨格となり凝集性の良い汚泥を形成するため、沈澱上澄み水の濁度が小さくなった。
- 7) 正常なフロックは $100\mu\text{m}$ 程度の径であり、球形度は約0.7、円形度は約0.8と比較的球に近い形状をしていた。糸状性細菌の増殖によりフロック径が増大しそのばらつきが大きくなった。また、円形度、球形度の小さいびつな形状のフロックが多くなった。
- 8) 活性汚泥中での糸状性細菌の増殖を時間単位で計測した結果、*Sphaerotilus natans* は活性汚泥中で対数的に増殖し、急激に汚泥の沈降性を悪化させることが明らかとなった。その比増殖速度は、1.0/日であった。
- 9) 活性汚泥中の糸状性細菌は $10^2\sim 10^3$ cm/mg MLSS程度で適度に存在させることが好ましいが、一度何らかの原因で増殖状態にはいると急激にバルキングを引き起こすため、常時糸状性細菌の現存量を把握し活性汚泥状態の管理を行うことが重要であることを指摘した。

参考文献

- 1) Sezgin, M. and Jenkins D. : A unified theory of filamentous activated sludge bulking. *J. Water Pollution Control Fed.*, Vol. 50, pp. 362-381, 1978.
- 2) Palm, J. C. and Jenkins D. : Relationship between organic loading, dissolved oxygen concentration and sludge settleability in the completely mixed activated sludge process. *J. Water Pollution Control Fed.*, Vol. 52, pp.2485-2506, 1980.
- 3) Walker, A. P. : Quantitative filament counting --- a quick, symple method for preparation and monitoring of filamentous bulking. In Chambers B. and E. J. Tomlinson (Ed.), *Bulking of Activated Sludge*. ELLIS HORWOOD, Chichester, England. pp. 245-251, 1982.
- 4) 河野哲郎：活性汚泥中の糸状性微生物量の測定方法, 水質汚濁研究, Vol. 6, pp. 377-386, 1983.
- 5) Watanabe S., Baba K., Mastuzaki H., Hiraoka M. and Tumura K. : Operational condition diagnosis system for activated sludge processes based on microorganism image information. *Advanced in Water Pollution Control, Proceeding of the 5th IAWPRC Workshop held in Yokohama and Kyoto, Japan*, pp.683-690, 1990.他
- 5) 松井三郎・山本良子：カラーテレビモニターを用いた活性汚泥の糸状性細菌長, 糸状菌長およびフロック投影面積の測定, 下水道協会誌, Vol. 20, No. 224, 1983/1
- 6) 松井三郎・山本良子：活性汚泥の沈降性に及ぼす糸状性細菌, 糸状菌の役割, 下水道協会誌, Vol. 20, No. 225, 1983/2
- 7) 松井三郎, 山本良子：活性汚泥の圧密性凝集性に及ぼす糸状性微生物の役割, 下水道協会誌, Vol. 21, No. 250, 1984/1
- 8) Matsui, S. and Yamamoto R. : The use of color TV technique for measuring filament length and investigating sludge bulking causes. *Water Sci. Tech.*, Vol. 16, Vienna, pp 69-81, 1984.
- 9) Yamamoto, R. and Matsui S. : Measuring the growth rate of filamentous bacteria and influence of the bacteria on settleability, thickening property and floc configuration of activated sludge. *Advanced in Water Pollution Control, Water Pollution in Asia*, pp 329-335.
- 10) 前掲1)
- 11) 河野哲郎：標準汚泥容量指標の提案とその合理的な使い方, 下水道協会誌, Vol. 13, pp.17-25, 1976.
- 12) 前掲1)
- 13) Tetsuro Kohno, Shin Satoh and Kooji Yashina : The determination of a filamentous bacteria inactivated sludge mixed population. 京都大学衛生工学研究会第8回シンポジウム講演論文集, 1986/7.
- 14) 橋本奨・須藤隆一編著: 新しい活性汚泥法, 産業用水調査会 1986.
- 15) Hiroji Yoshikawa and Yo Takiguchi : Attached growth of *Sphaerotilus natans* in continuous-flow apparatus and its growth inhibition by 9- β -D-arabinofuranoadenine. *Appl. Environ. Microbiology*, Vol. 3, No. 2, 1979

APPENDIX I 活性汚泥中の糸状性細菌の現存量としての糸状体長の測定法

1. 活性汚泥フロックを穿断しないように口径1.5mm以上のピペットを用いて、希釈試料を1mL採取する。
2. 1のピペット内の試料をn枚のライドグラスに1滴ずつ滴下する。ライドグラスはFig. 2.23-aに示したような1mmの格子線上に線が入ったものを用いる。このとき、1滴おきにライドグラス上に滴下し、2n滴滴下後にピペット内の残量を読み取ることによって1滴の容量を計算する。通常16滴でほぼ1mLとなるのでライドグラスは8枚が適当である。
3. スライドグラス上の試料を18×18mmのカバーグラスでおおう。この時、カバーグラスがライドグラス上の格子線と平行になるように注意する。このカバーグラスで滴下した試料の大部分を覆うことができる。
4. スライドグラスを顕微鏡にセットし、10倍の対物レンズを用いてモニターテレビ上にピントを合わせる。この条件で、格子のほぼ1区画がテレビ画面上に写し出される。
5. カバーグラスはFig. 2.23-bに示すように17×17区画を完全におおうことになる。測定区画はそのうちの半分の145区画である。
6. 格子線上のものは無視することとする。格子線の面積は4.66%であったので、測定面積はカバーグラスで覆った全面積の42.7% ($18^2/145/95.54$) となる。
7. 測定区画内に認められた糸状性細菌をシステム1および2ではキルビメーターでなぞることによって、システム3ではライトペンによってパソコンに入力することによって長さを計測する。

APPENDIX II 活性汚泥中のフロック径の測定方法

1. 1mmの界線の入った枠付ライドグラスを用いる。枠は長さ50mm、幅20mm、深さ1mmで容積は1mLである。(Fig. 2.24-a)
2. 希釈試料を枠内に満たし、カバーグラスで気泡の入らないように注意して覆う。
3. 対物レンズ4倍を用いてシステム1の顕微鏡にセットする。
4. スライドグラス上の界線の50区画がフレーム内に現れるが、Fig. 2.24-bに示すようにそのうちの25区画を計測する。
5. 測定区画内に半分以上が入っているフロックについて、トレーシングペーパー上にその外周をトレースする。
6. デジタイザーによって長径、外周長および投影面積を計測する。
7. 糸状性菌が多く増殖している場合にはキルビメーターで長さを計測する。

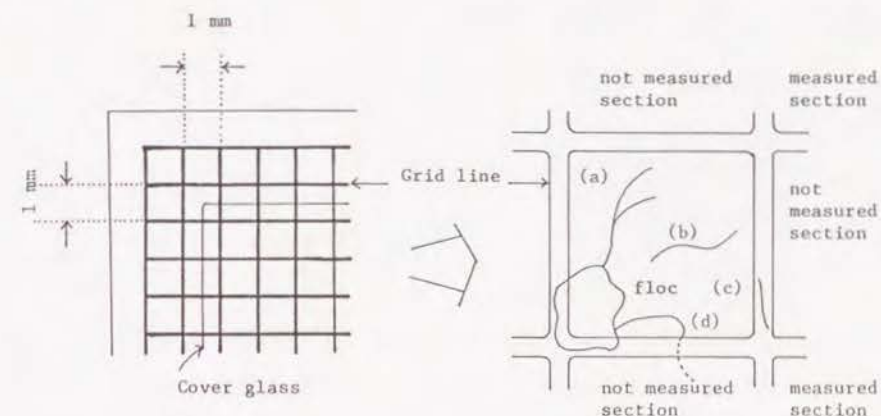


Fig. 23-a

Fig. 23-c

- (a): Filaments extended out of a floc are measured.
 (b): A filament detached from a floc is also measured.
 (c): A filament extended beyond the not measured section is measured only in the part within the measured section.

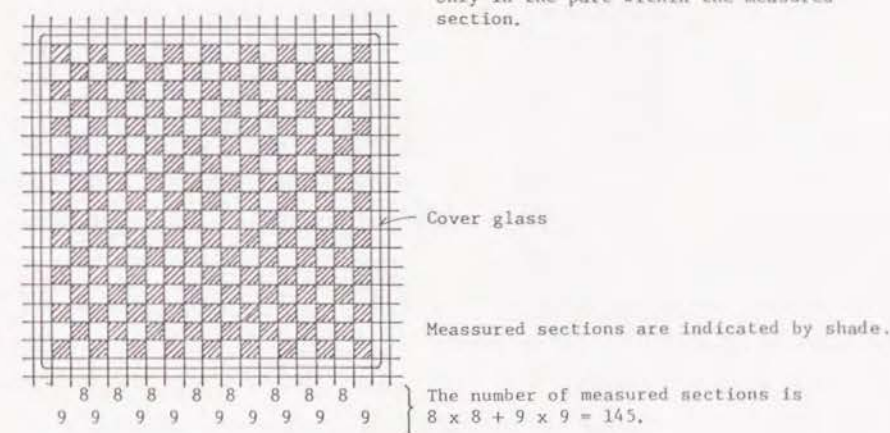


Fig. 23-b

Fig. 2.23 The slide glass used for measurement of filamentous length of bacteria is shown and the role of measurement of filaments is included.

第3章 *Sphaerotilus natans* の増殖によるバルキングの発生に及ぼす活性汚泥の貯蔵、代謝の影響

第1節 緒言

活性汚泥処理におけるバルキングに関しては、古くから多くの研究が行われている。室内実験では、廃水中の有機炭素源としてグルコースを用いた研究が多く、出現する糸状性細菌としては、*Sphaerotilus natans* の報告例が多い。特に、連続培養ではバルキングが起こるが回分式培養では起こりにくいこと^{1),2)}、連続槽を押し出し流れ型にするか廃水と汚泥を高濃度で接触させる選択槽（セレクター）を設けるとバルキングは抑制されること^{1),3),4),5),6)}、回分培養では廃水の注入を連続的に行うとバルキングが発生すること⁷⁾等の実験結果が多く報告されている。これらの結果は、活性汚泥の糸状性微生物の生存増殖は廃水と微生物が接触する部分での負荷に大きく影響されることを示唆するものと考えられる。

ところで、活性汚泥処理において、廃水中から除去された有機物の一部が微生物の細胞内に貯蔵され、有機物が欠乏するとそれを分解して利用することが知られている。貯蔵物質としては、グリコーゲン様多糖類とPHBが有名である。Waltersら⁸⁾はF/M比、COD/N比および有機物組成（特に炭水化物含有量）が活性汚泥微生物の貯蔵物質合成能に影響することを報告している。Takii⁹⁾は、実処理場から採取した活性汚泥を用いて実験を行った結果、多糖類貯蔵能が大きい汚泥はグルコース除去速度が速いことを報告している。多糖類貯蔵能は基質除去速度に大きく影響すると考えられる。合田ら¹⁰⁾、森山ら¹¹⁾および益長ら¹²⁾は貯蔵過程を考慮した動力学モデルを提案している。Dohanyosら¹³⁾と Chech and Chudoba¹⁴⁾は活性汚泥微生物は貯蔵能力の他に蓄積（Accumulation）能力を持つと報告している。これは、ペリプラズマ空間に蓄積される少糖類のことをさすものと考えられる。Dohanyosら¹³⁾は、蓄積と貯蔵を考慮したモデルを提案している。汚泥と基質との接触時の負荷量は貯蔵や蓄積過程に大きな影響を及ぼしていることが想像される。

バルキングの発生機構としては、Chudobaら⁷⁾の基質濃度勾配説が最も有名である。これは、曝気槽に基質の濃度勾配がある場合には糸状性細菌の増殖が抑制されるという実験結果から、糸状性細菌の増殖をフロック形成菌とのモノー式における最大増殖速度および基質に対する親和性の差から説明するものである¹⁵⁾。また、彼らの一連の研究では基質濃度勾配説で説明出来ない部分を、Accumulation-regeneration 説で説明している^{13),14),16),17)}。これは、*Sphaerotilus natans* が多く増殖した汚泥と殆ど存在しない汚泥の基質除去曲線の比較から、*Sphaerotilus natans* は基質の蓄積能力がないか非常に小さいと推論

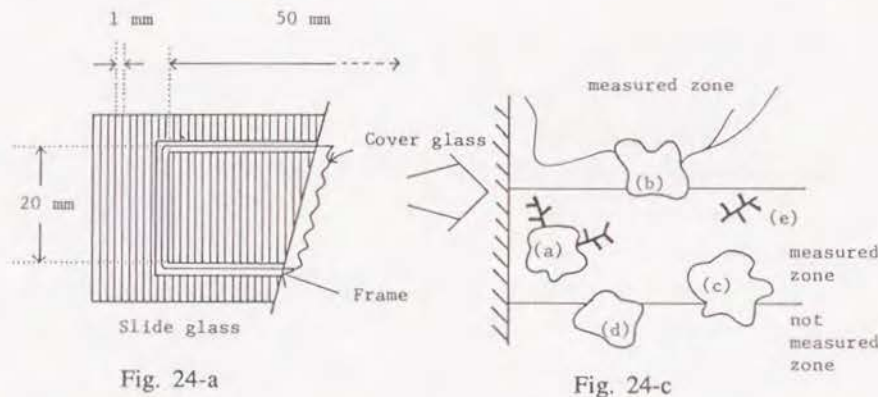
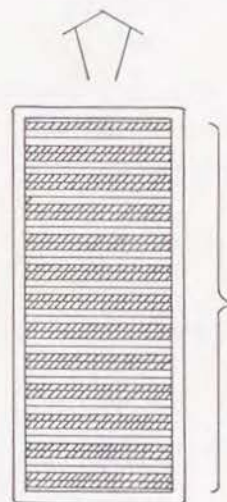


Fig. 24-a

Fig. 24-c



- (a): A floc and fungi within the measured zone are measured.
- (b): A floc and filamentous bacteria within the measured zone, filamentous bacteria are not measured. The projection area of the floc is measured.
- (c): A floc which occupies more than half of its projected area in the measured zone, is measured for the all of its projected area.
- (d): A floc which occupies less than half of its projected area in the measured zone, is not measured.
- (e): Detached fungi from a floc is very seldom, but measured within the measured zone.

$\frac{50}{2} = 25$ zones which are shaded, are measured.

Fig. 24-b Frame and zones are shown.

Fig. 2.24 The slide glass with the frame used for measurement of floc configuration and length of fungi is shown and the role of measurement of flocs and fungi is included.

し、蓄積能力を回復するに十分な曝気時間があれば糸状性細菌の増殖は抑制されると考えたものである。安田ら¹⁸⁾の飢餓時間比説はこれと類似の説であり、外部に基質が存在しない期間が長いと、貯蔵能力の小さな *Sphaerotilus natans* は増殖出来ないと考えた。以上のように *Sphaerotilus natans* の増殖には蓄積または貯蔵過程が大きく関与しているものと考えられるが、Chudoba らも安田らも蓄積及び貯蔵量の測定を実際には行っていない。河野¹⁹⁾ はグルコースを主体とする人工廃水を用いて回分注入とフェッドバッチ注入で生成した汚泥の貯蔵物質の測定を行うとともに、*Sphaerotilus natans* の貯蔵物質の測定を行った結果、外部に利用可能な基質が十分に存在する回分式注入方式では多糖類蓄積能力と増殖速度の大きい細菌相の汚泥が増加し、PHBを主要な貯蔵物質とする *Sphaerotilus natans* は系外に排除されるが、フェッドバッチ方式では基質の摂取速度と増殖速度は廃水の注入速度依存となるため、*Sphaerotilus natans* は増殖しやすくなると述べている。しかし、筆者らの実験ではフェッドバッチ方式でも注入時間が長いとバルキングが起こることが確認されており、運転方式のみで説明することはできないと考えられる。朴²⁰⁾ は、嫌気・好気活性汚泥法において、攪拌条件（嫌気）下における炭水化物の蓄積の測定を行い、曝気停止下での最大基質負荷積 (LR_{max})（1 サイクル中の各々の曝気停止下で、曝気槽内の混合液容積当たりの流入した基質のうち酸化されずに残っている基質量 (gCOD/l) とその時の基質負荷速度 (gCOD/gSS/hr) の積のうち最大となるもの）が大きいと嫌気条件下での炭水化物蓄積量が大きくなり、 LR_{max} が小さく、曝気時間にもとづいた有機物負荷 ($(F/M)_{T_{90}}$) が大きい場合にバルキングになりやすいと述べている。これは嫌気条件下での蓄積もまた、糸状性細菌の増殖に影響することを示すものである。

一般に細胞内多糖類の抽出には動物細胞のグリコーゲン抽出法として有名なKOH抽出法 (Hervert ら²¹⁾) が用いられている。この抽出法では細胞構成成分は抽出されず、グリコーゲン様の多糖類は抽出され、それをアルコール沈澱によって回収してアンスロン法によって定量する。でんぷんやアルブミンなどの高分子の有機物は、まず活性汚泥フロックに吸着された後、低分子に加水分解され細胞内に輸送されることが知られている²⁰⁾。また、活性汚泥のフロックを構成する細胞外粘性物質の抽出方法が種々提案されており、その主成分は多糖類であることが知られている^{22,29)}。ときにはその量が増大し沈降性が悪化するいわゆる高粘性バルキングに至ることがある。KOH抽出法を直接活性汚泥に適用した場合、このような細胞外に吸着された多糖類やフロック形成のための細胞外ポリマーが同時に抽出されることが避けられない。貯蔵多糖類を定量する場合にこのような細胞外多糖類の混入を最小限に止めることが重要と考えられる。

本章では、主に *Sphaerotilus natans* の増殖によって起こる糸状性バルキングについて取り上げ、活性汚泥微生物の有機物貯蔵能力および代謝能力と *Sphaerotilus natans* の増殖の関係を明らかにすることにより、バルキング発生機構を説明する。第2節では、従来から行われている細胞外ポリマーの抽出方法と細胞内のグリコーゲンの測定方法を組み合わせて活性汚泥内の炭水化物の分画を行い、蓄積、貯蔵量の測定を行うことを試みた。また、その方法の妥当性を検討するために、グルコース、でんぷんおよびスキムミルクによって活性汚泥の馴養を行いそれぞれの基質除去機構について実験的検討を行った³⁰⁾。第3節では、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて、廃水を一度に添加する回分式、廃水を連続的に添加する回分式（フェッドバッチ方式）、連続式で種々の

運転条件によって活性汚泥の馴養を行った。生成した活性汚泥の貯蔵能力の測定を行うことにより、運転条件と生成汚泥の沈降性、多糖類貯蔵能力および炭水化物代謝能力の関係について検討するとともに、糸状性細菌とフロック形成細菌のそれぞれの能力の差異について検討した^{31),32)}。第4節では貯蔵過程を考慮した簡単なモデルを用いて、糸状性細菌とフロック形成細菌の間に、多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝能力の差異があることによって、バルキングが発生することを説明することを試みた³²⁾。

第2節 貯蔵物質の抽出方法の開発

2. 1 実験方法

2. 1. 1 細胞外物質の抽出方法

活性汚泥の細胞外ポリマーに関してはフロック形成機構と関連して多くの研究がなされており、種々の抽出方法が提案されている³³⁾。その中で最も報告例が多いのはアルカリ抽出法であるが、Brown and Lester³⁴⁾ は、活性汚泥の場合には水蒸気抽出が最も細胞破壊が少なく抽出効率が良いと述べている。そこで本研究では、アルカリ抽出と水蒸気抽出について検討を行った。両抽出方法共に、活性汚泥（曝気槽混合液）100mLを遠心分離（3,000g、5分）し、蒸留水40mLに再懸濁後再び遠心分離（3,000g、5分）した汚泥（以後、これを洗浄汚泥と呼ぶ）に対し抽出を行った。水蒸気抽出では、洗浄汚泥に蒸留水を40 mL加え、アルミホイールで二重に包んでオートクレーブ（105±5℃）で抽出した。遠心分離（5,000g、10分）の後、上澄み水を100 mLのメスフラスコに移し、汚泥表面を少量の蒸留水で洗浄しその洗浄水を加えて100 mLとした。アルカリ抽出では、水蒸気抽出と同様な方法で洗浄した汚泥に0.1 Nと2 Nの水酸化ナトリウム溶液を3倍量加え、約5分間抽出後、水蒸気抽出と同様に遠心上澄みについて、炭水化物及び蛋白質の測定を行った。

2. 1. 2 細胞内多糖類の抽出方法

100 mLの汚泥を遠心分離（3,000g、5分）した後、還流冷却器をつけた丸底フラスコに投入し、50mLの30% KOH溶液を添加して、100℃で3時間処理する。冷却後冷却器およびフラスコ内を少量の蒸留水で洗浄し、5,000gで10分間遠心分離し、上澄み水（ほぼ80mL）について120mLのエタノールを加える。1昼夜静置した後、沈殿物を遠心分離（5,000g、10分）によって集め、超音波破壊器によって緩い超音波をかけて分散させることにより、100mLの蒸留水に溶解する。

2. 1. 3 汚泥内全炭水化物の抽出方法

20mLの活性汚泥を遠心分離（3,000g、5分）し、蒸留水20mLで洗浄後再び遠心分離（3,000g、5分）して得た沈澱汚泥に対し、 H_2SO_4 (4+1) 溶液を5 mL添加し、約5分間

振倒する。蒸留水で100 mLに希釈して保存し、分析の直前に超音波破壊器によって分散した後炭水化物の定量を行う。

2. 1. 4 混合液全炭水化物の抽出方法

活性汚泥 5 mLを準備し、 H_2SO_4 (4+1) を10mL添加して5分間分解する。分析直前に超音波破壊器によって分散させた後、炭水化物を定量する。

2. 1. 5 PHBの抽出方法

もう一つの貯蔵物質であるPHBの定量にはdisk assay³⁵⁾を一部改良して用いた。濾紙は原法では直径2.7mmのガラスファイバー濾紙を用いているが、本研究では精度を向上させるために汚泥量を増加して3.5mmの径の濾紙を用いた。活性汚泥混合液10mLを遠心分離し、沈澱汚泥を全量予め硫酸で洗浄した濾紙上に載せて針の先端で濾紙上に広げた後、原法に従って抽出操作を行った。この時汚泥量が多いため60%次亜塩素酸ナトリウム溶液による汚泥の消化には4時間程度必要であった。濾紙上に固定したクロトン酸の溶出には硫酸10mLを用い、230nmのUV吸収によって定量した。

2. 1. 6 分析方法

抽出液中の炭水化物濃度はグルコースを標準液として、アンスロン法³⁶⁾を用い定量した。アンスロン法ではグルコースおよびグルコースで構成される二糖類のマルトース、多糖類のグリコーゲン、でんぷん、デキストリン、グルカン、セルロースなどに鋭敏に反応し、発色の強さは同等である。ガラクトースもほぼ同一波長の発色を示すが、その発色の強さはグルコースよりも小さい。ペントースやヘプトース等のその他の炭水化物では殆ど発色しない。本研究で対象とする細胞内多糖類はグリコーゲン様物質であると考えられるので、本方法が適用可能である。本研究では基質としてグルコース、でんぷんおよびグルコースとガラクトースからなる二糖類の乳糖を用いており、乳糖でやや発色が小さくなることを除けば本方法は有効と考えられる。細胞外物質や汚泥内全炭水化物濃度はやや小さく評価される可能性がある。しかし、相対的な評価としては十分に適用可能と考えられる。

ところで、汚泥内全炭水化物または混合液全炭水化物の抽出の際に H_2SO_4 (4+1) を添加するため、アンスロン法で分析する試料中に硫酸が低濃度ではあるが混入することになる。アンスロン法ではアンスロン試薬を硫酸に溶解するがこのときの硫酸の濃度が発色に微妙に影響することが知られている³⁷⁾ため、後述するように硫酸の影響の検討を行った。その結果、定量時に0.5 %程度の H_2SO_4 (4+1) が含まれていても吸光度が上昇することが認められたため、この場合の炭水化物濃度は硫酸の影響を補正して求めることとした。

蛋白質に関しては牛血漿アルブミンを標準液としてローリー法³⁸⁾によって定量した。本研究で基質として用いたペプトンの発色は牛血漿アルブミンの60%程度であったが、値は牛血漿アルブミン換算値として表示した。

MLSSの測定には迅速水分計を用いた³⁹⁾。これは、活性汚泥100mLを遠心分離し、沈澱汚泥を金属性の皿の上に乗せ、迅速水分計によって乾燥し、重量になった時の重量を読

み取る方法である。この方法では、乾燥した汚泥を冷却する前に重量測定できるために、汚泥の吸湿による重量の増加がなく精度良く定量することができる。

2. 1. 7 活性汚泥の基質除去試験方法

グルコース、でんぷんおよびスキムミルクの除去機構を調べるために、予めそれらの基質を含む人工廃水で活性汚泥の馴養を行った。用いた人工廃水の組成をTable 3.1に示す。A都市下水処理場から採取した余剰汚泥を種汚泥として20Lの回分式装置によって1日4回の基質の投入するfill and draw 運転を行った。運転サイクルは14Lの人工廃水を一度に投入し5時間曝気したのち約1時間沈澱させ、上澄みを14L排出した後再び14Lの廃水を投入するものである。余剰汚泥として1日1回沈澱の直前に混合液を5L引き抜いた。

運転開始から3週間以上経過した後、余剰汚泥を用いて以下のような回分試験を行った。余剰汚泥を5Lのタンクに移し、約1時間沈澱させた後上澄み水を排出し、馴養に用いた人工廃水と同一組成の基質を最終濃度がグルコース、でんぷんまたはスキムミルクで1,000mg/Lとなるように添加して全量を4Lとした。直ちに攪拌した後0時間の試料採取を行い、曝気を開始した。その後、0.5 ~ 6時間間隔で試料を採取して分析に供した。別に沈澱させる前の余剰汚泥についても分析を行った。分析項目は、液相炭水化物および蛋白質、細胞外炭水化物、細胞内多糖類、汚泥内全炭水化物およびPHBである。

Table 3.1 Composition of artificial wastewater used in the experiments.

	GP Substrate	SP Substrate	Milk Substrate
Glucose	250	-	-
Starch	-	250	-
Peptone	250	250	-
KH_2PO_4	22.5	22.5	5.0
Alythiourea	2.5	2.5	-
Skimmed Milk	-	-	500
$(NH_4)_2SO_4$	-	-	50

2. 2 実験結果および考察

2. 2. 1 細胞外物質の抽出方法

Fig. 3.1は、水蒸気抽出における抽出時間と炭水化物抽出量および蛋白質抽出量の関係を示したものである。水蒸気抽出では、抽出時間30分までは抽出量は時間とともにほぼ直線的に増大している。このことより、Brown and Lester³⁹⁾の用いた抽出時間10分は短すぎ、30分程度が適当と考えられる。Fig. 3.2は、アルカリ抽出における水酸化ナトリウム濃度と抽出量の関係を示している。アルカリ抽出では、2 N水酸化ナトリウム溶液で30分の水蒸気抽出と同程度またはそれ以上の炭水化物が抽出されるが、蛋白質の抽出量が

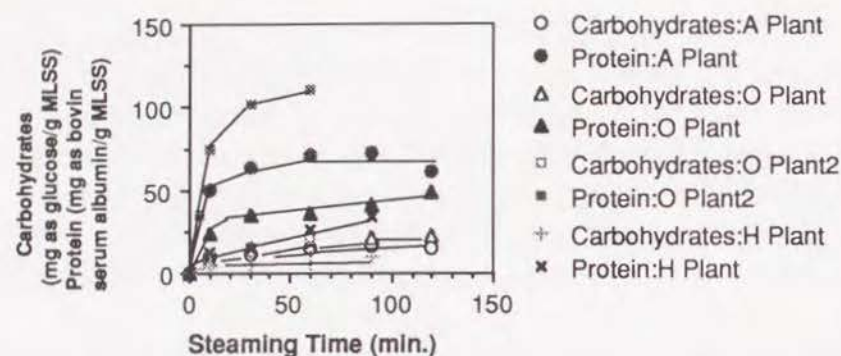


Fig. 3.1 Relationship between steaming time and the concentrations of extracted carbohydrates and protein in when the steaming extraction method was examined.

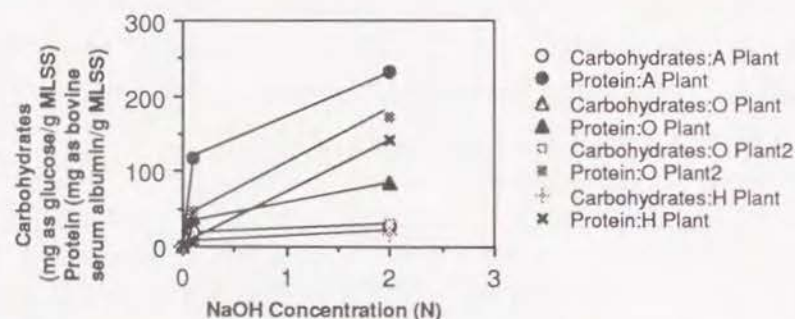


Fig. 3.2 Relationship between NaOH concentration and the concentrations of extracted carbohydrate and protein when the NaOH extraction method was examined.

非常に多くなっていることがわかる。細胞外マトリックス中にも蛋白質が含まれていると報告されているが、抽出蛋白質/炭水化物比が、例えばA処理場の場合30分水蒸気抽出で5.0であるのに対し2N水酸化ナトリウム抽出で8.5と2倍近くになっていることより、この蛋白質量の増大は細胞破壊に起因すると考えた方が妥当であろう。Brown and Lester³³⁾は水酸化ナトリウム抽出では水蒸気抽出よりもDNAが多く抽出されると報告している。DNAの増大もまた、細胞破壊を示唆するものである。また、2N水酸化ナトリウムで抽出後の汚泥は変色し溶解していた。細胞が破壊されれば、細胞内多糖類も抽出されることが考えられるので、アルカリ抽出は細胞外物質を抽出除去して細胞内の貯蔵多糖類の正味量を把握しようという本研究の目的には全く適さないと判断された。以上より、本研究では細胞外物質の抽出除去方法として水蒸気抽出30分を用いることとした。

2. 2. 2 細胞内多糖類の抽出方法

まず最初に、確認のため、単糖類としてグルコース、ガラクトース及びフルクトー

ス、二糖類としてショ糖、乳糖及び麦芽糖、多糖類としてでんぷん、セルロースおよびグリコーゲンを用いて、30%KOH抽出による回収率の検討を行った。炭水化物の定量には、アンスロン法（グルコース標準）を用いた。結果をTable 3.2示す。単糖類及び二糖類はエタノールで沈澱しないため、全く回収されていない。多糖類の回収率は90%以上であり、特に目的とするグリコーゲンが100%回収されている。このことは、本方法により、抽出された貯蔵多糖類を殆ど回収できることを示している。しかし、でんぷんやセルロースなどの多糖類も抽出できると言う事実は、微生物細胞の外側に吸着された多糖類や、細菌の分泌する細胞外ポリマーもまた、抽出され得ることを示している。特に活性汚泥中の微生物はフロックを形成しているため、細胞外ポリマーの影響が大きいことが予想される。そこで、あらかじめ細胞外物質を抽出除去した活性汚泥に対し、細胞内多糖類の抽出を行う方法を考案し、検討を行った。

細胞外物質の抽出が細胞内多糖類の抽出に及ぼす影響を調べるため、同一汚泥に対し、細胞外物質を抽出した場合としない場合のKOHによる抽出量の比較を行った。結果をTable 3.3に示す。直接KOHで抽出した場合(a)は、水蒸気抽出を行った後にKOH抽出を行った場合(b)と比べて多糖類抽出量が多くなっていることがわかる。これは、直接KOHで抽出した場合(a)には、細胞外炭水化物を一部含むためと考えられる。((b)+(c)-(a))はKOH抽出で抽出されなかったが、水蒸気抽出で抽出された炭水化物の量を示している。KOH抽出では、低分子の炭水化物は抽出されないで、これらは、細胞外の低分子の炭水化物量を示していると考えられる。((a)-(c))が直接KOH抽出を行った場合を含む細胞外炭水化物のうち高分子のものと考えられるが、この量は、汚泥の種類によって様々で

Table 3.2 Recovery efficiency of carbohydrates in the KOH extraction method

Carbohydrates	Before Extraction (mg/L)	After Extraction (mg/L)	Recovery Efficiency (%)
Polysaccharides			
Glycogen	949	955	100
Starch	1060	1030	97.2
Cellulose	1030	963	93.5
Disaccharide			
Sucrose	1348	0	0
Lactose	1930	0	0
	2188	0	0
Monosaccharides			
Glucose	2151	0	0
Galactose	1628	0	0
Fructose	3750	0	0

あり、細胞内多糖類抽出の際の誤差となる。水蒸気抽出により細胞外多糖類を全て取り除くことが可能かどうかについては疑問が残るが、水蒸気抽出を行った後にKOH抽出を行うことにより測定できたものを細胞内多糖類と定義することとした。

Table 3.3 The results of the extracted carbohydrates with the direct KOH extraction method after steaming.

Activated sludge plant	Extracted carbohydrate (mg/L)			(a)-(c)	(b)+(c)-(a)
	Direct KOH extraction	Steaming extraction	KOH extraction after steaming		
	(a)	(b)	(c)		
A municipal wastewater treatment plant	112.1	79.3	96.2	15.9	63.4
H soybean process wastewater treatment plant	109.0	32.3	104.2	4.8	27.5
Experimental unit fed with skimmed milk	126.9	63.9	81.3	45.6	18.3
Experimental unit fed with glucose and peptone	166.7	37.5	160.0	6.7	30.8

2. 2. 3 混合液全炭水化物の抽出方法

曝気槽混合液中の全炭水化物の抽出には、直接混合液中の全炭水化物を抽出する方法と予め遠心分離によって汚泥と液相を分離した後に汚泥の抽出を行い、両者の炭水化物濃度を測定する方法がある。いずれの抽出方法でも、細胞の破壊と多糖類の分解に硫酸を用いる必要がある。硫酸の原液を用いた場合汚泥が黒変するため、本研究では H_2SO_4 (4+1) 溶液を用いることとした。 H_2SO_4 (4+1) の添加によりグルコースの分解が懸念されたため、グルコース標準液に種々の量の H_2SO_4 (4+1) を添加した後炭水化物の定量を行うことにより、グルコース回収率に及ぼす H_2SO_4 (4+1) の影響について検討した。その結果、殆どの場合に吸光度が理論値よりも上昇することが認められた。Table 3.4 はその結果の一例として、アンスロン測定の際に試料 1 mL 中に含まれる H_2SO_4 (4+1) の割合が 1/15 となるものについて、吸光度の上昇率を示したものである。上のカラムはグルコース標準液 28 mL に対し最初に 2 mL の H_2SO_4 (4+1) を添加して、その 1 mL を採取してアンスロン測定を行ったものであり、下のカラムはグルコース標準液 5 mL に H_2SO_4 (4+1) 10 mL を添

Table 3.4 The absorbance increasing ratio when 2 volume of H_2SO_4 (4+1) was contained in 28 volume of glucose standard solution in the anthrone measurement samples.

Glucose standard solution		Volume of H_2SO_4 (4+1) solution (mL)	Anthrone measurment sample (mL)	Absorbance increasing ratio
Concentration (mg/L)	Volume (mL)			
50	14	1	1	9.2
100	14	1	1	8.4
500	5	10	0.1	9.5
1000	5	10	0.1	9.6

加して、分析時 10 倍に希釈 (0.1 mL 採取して 0.9 mL の蒸留水を添加) したものである。両者のアンスロン測定時の H_2SO_4 (4+1) 濃度は等しくなり、吸光度の上昇率も等しい結果となった。このことは、グルコースが H_2SO_4 (4+1) の添加により変化するのではなく、アンスロン測定の試料中に H_2SO_4 (4+1) が混入したために吸光度が上昇したことを示唆するものである。Fig. 3.3 はアンスロン測定時の試料中の H_2SO_4 (4+1) の混入割合と吸光度の関係を示したものである。 H_2SO_4 (4+1) の混入率 50% 程度までは H_2SO_4 (4+1) が多く混入すると吸光度が大きく上昇するが、それ以上の混入では逆に低下することがわかる。また、 H_2SO_4 (4+1) が 0.5% 程度含まれるだけでも吸光度が上昇する傾向が認められたことより、炭水化物の定量には H_2SO_4 (4+1) の影響を補正することとした。

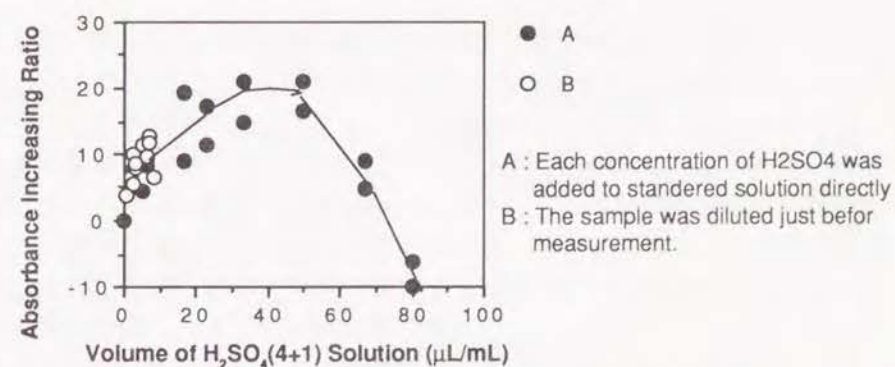


Fig. 3.3 Relationship between the volume of H_2SO_4 (4+1) solution contained in 1 ml of anthrone measurement sample and increasing ratio of absorbance to normal conditions.

混合液の全炭水化物を直接求める場合に、最も回収率の良い H_2SO_4 (4+1) 添加量を求めるために、MLSS 1,000~2,000mg/Lの活性汚泥を用いその5 mLに対して種々の量の H_2SO_4 (4+1) を添加して分析を行った。Fig. 3.4は H_2SO_4 (4+1) 添加量と抽出された炭水化物濃度の関係を示したものである。実験1および実験2では、炭水化物は液相に残存しており、細胞内の炭水化物濃度は低かった。このような場合には H_2SO_4 (4+1) の添加量はあまり大きく影響してこないことがわかる。その他の実験では細胞内に十分に炭水化物を蓄積した汚泥について分析を行っている。この場合、汚泥混合液 5mLに対し5mLの H_2SO_4 (4+1) では不十分であり、10mL以上の H_2SO_4 (4+1) が必要であることがわかる。 H_2SO_4 (4+1) の添加は最小限が望ましいので本研究では汚泥混合液 5mLに対し10mLの H_2SO_4 (4+1) を添加して測定することとした。

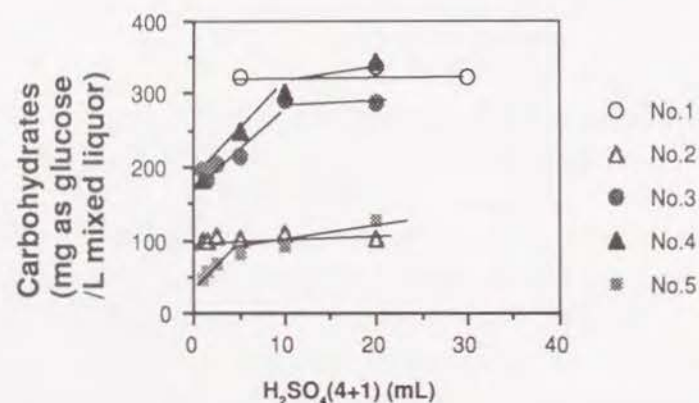


Fig. 3.4 Relationship between the volume of H_2SO_4 (4+1) solution added to 5 ml of mixed liquor and the recovered carbohydrate concentration in the direct extraction method of total carbohydrates in the mixed liquor.

遠心分離により液相と汚泥を分離して測定する場合の H_2SO_4 (4+1) の添加量について検討するために、混合液20mLを遠心分離して得た汚泥に2.5、5および10mLの H_2SO_4 (4+1) を添加して炭水化物の定量を行った。液相についても0.45 μm のメンブレンフィルターによって濾過した後、炭水化物の分析を行った。別に同汚泥について、前述の直接測定法により混合液全炭水化物の分析を行った。Table 3.5 はその結果を示したものである。添加する硫酸の量に関わらず抽出量は一定であることがわかる。5 mLの H_2SO_4 (4+1) を用いれば汚泥濃度の変化にも対応できると考えられるため、本研究では20mLを遠心分離して得た沈澱汚泥に対し、5 mLの H_2SO_4 (4+1) を添加することとした。汚泥内全炭水化物濃度に液相炭水化物濃度を加えた混合液全炭水化物濃度と、直接混合液を抽出して求めた全炭水化物濃度は、液相に殆ど炭水化物が残存していない本実験条件ではほぼ一致していた。

Table 3.5 Extracted carbohydrate in the mixed liquor using the separate extraction method in the three conditions and that using the direct extraction method.

Separate extraction method using 20 mL of activated sludge			
	Total carbohydrates in the sludge	Carbohydrates in the liquid phase	Total carbohydrate in the mixed liquor
H_2SO_4 (4+1) added	Carbohydrate		
2.5 mL	128.7	2.2	130.9
5.0 mL	128.0		130.2
10 mL	128.3		130.5
Direct extraction method using 5.0 mL of activated sludge mixed liquor			
			130.6

種々の条件での2つの実験方法で得た炭水化物濃度の比較を行うために、簡単な基質除去試験を行った。用いた汚泥はグルコースとペプトンを主体とする人工廃水で馴養した汚泥であり、グルコースペプトン基質を添加して経時的に液相炭水化物、汚泥内全炭水化物および混合液全炭水化物の分析を行った。Fig. 3.5はその結果を示したものである。混合液全炭水化物濃度は汚泥内全炭水化物濃度に液相炭水化物濃度を加えた値と有

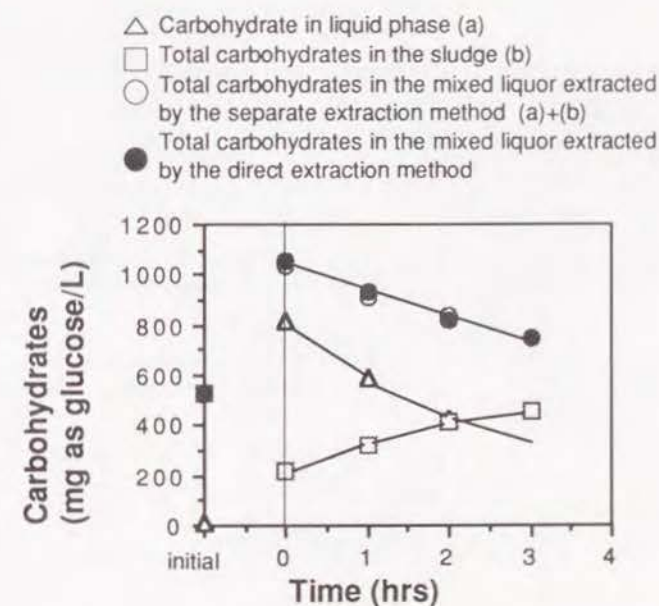


Fig. 3.5 Time course of total carbohydrates in the mixed liquor extracted by the direct extraction method and that by the separate extraction method when the substrate made up of glucose and peptone was added to the activated sludge.

為な差は認められなかった。このことは、両者の抽出においてはほぼ同じ炭水化物を抽出しており、どちらの方法も有効であることを示すものである。初期において、直接測定値の方が加算値よりも幾分大きく評価されているが、これは液相炭水化物の抽出操作中のロスによるものと考えられるので、操作を出来るだけ速く行う必要があることが示唆された。

3. 2. 4 汚泥内炭水化物の分画

以上のことより、細胞内外の炭水化物の分画測定方法はFig. 3.6のようになる。この方法で、活性汚泥の液相炭水化物、細胞外炭水化物、細胞内多糖類および汚泥内全炭水化物または混合液全炭水化物量を求めることにより、活性汚泥内のアンスロン法で測定され

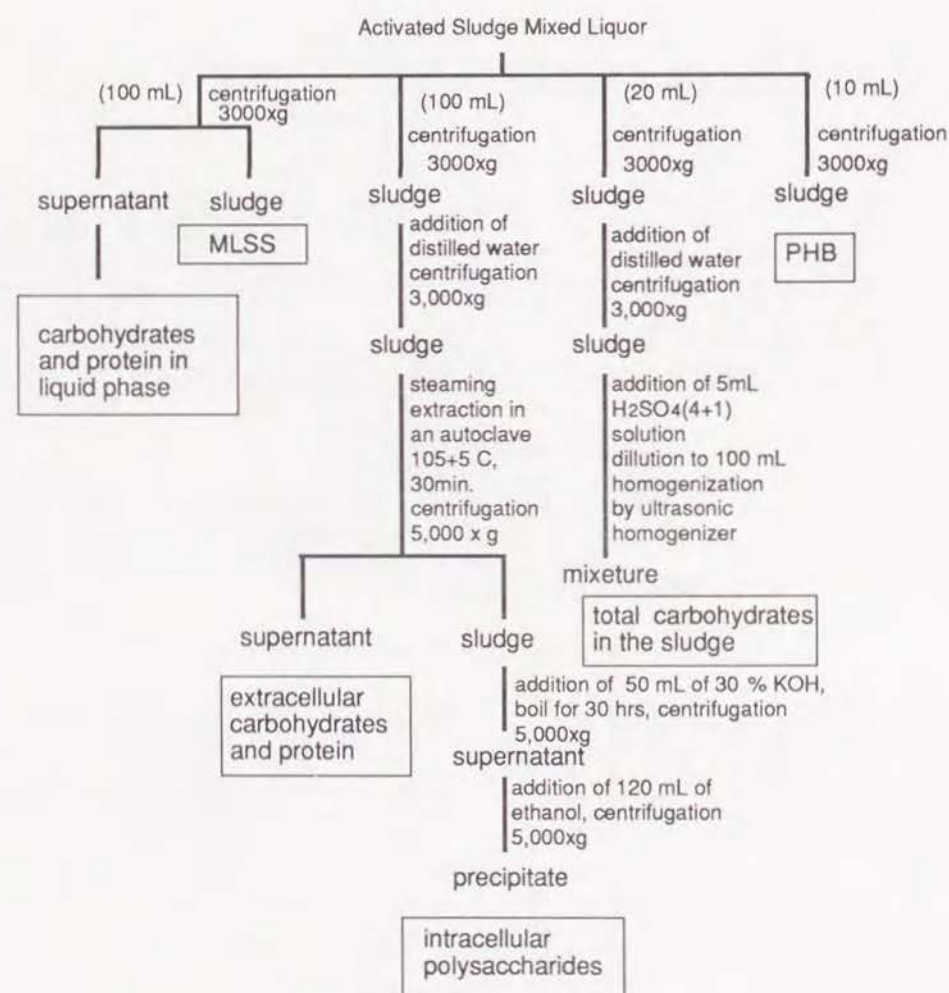


Fig. 3.6 Extraction procedures of intra- and extra-cellular carbohydrates in the activated sludge.

る炭水化物を次の4分画に分けることができる。それぞれの分画と抽出方法の関係をFig. 3.7に示す。

1)第1分画：0.45 μ m メンブレンフィルターろ液中の炭水化物

主に、基質中の溶解性炭水化物を示しており、溶解性の代謝産物も含まれると考えられる。

2)第2分画：水蒸気抽出炭水化物

主にフロック内に吸着された炭水化物と細胞外粘性物質を含む細胞外炭水化物と考えられる。

3)第3分画：水蒸気抽出した後の汚泥からKOH抽出により抽出された炭水化物

主に細胞内多糖類（細胞内に貯蔵されたグリコーゲン類似の貯蔵多糖類）と考えられる。

4) 第4分画：その他の炭水化物

〔汚泥内全炭水化物－（第2分画＋第3分画）〕

主に細胞構造炭水化物（細胞壁構成成分等）とエタノールで沈澱しない低分子炭水化

fractions		fraction I	fraction II		fraction III	fraction IV
extraction method		carbohydrates in the liquid phase	extracellular adsorbed carbohydrates	extracellular microbial polymers	intracellular stored polysaccharides	intracellular low molecular carbohydrates
(a)	Separation by 0.45 μ m membrane filter					
(b)	Agitation of mixed liquor by H_2SO_4					
(c)	Agitation of sludge by H_2SO_4					
(d)	Steaming extraction method					
(e)	KOH extraction method after steaming					
(f)	direct KOH extraction method					
(g)	(c) - (d) - (e)					

Fig. 3.7 Fractions of carbohydrates in the activated sludge.

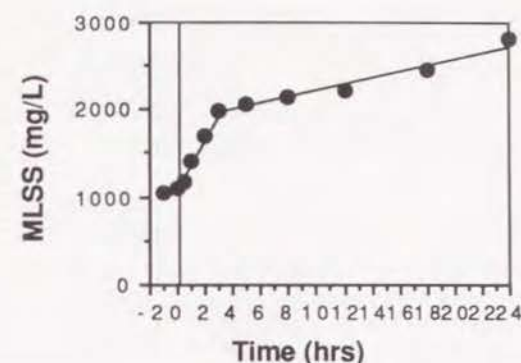
物が含まれると考えられる。

活性汚泥に回分で基質を加えた場合に第3分画の増減が起こるが、この時しばしば第4分画の炭水化物の増減が認められる。微生物1g当たりの細胞構造炭水化物はほぼ一定と考えられるので、この増減はエタノールで沈澱しない低分子の炭水化物の増減を示していると考えられる。Dohanyosら⁴⁰⁾はStorage(貯蔵)の前段階としてAccumulationの過程が存在することを指摘し、Grauら⁴¹⁾はその能力が糸状性細菌とフロック形成細菌とでは異なっていると述べている。本方法で分画される細胞内低分子炭水化物はこのAccumulationに相当すると考えられる。本研究では、これを蓄積と呼んで貯蔵と区別することとする。この中には、ペリプラズム空間に蓄積された炭水化物および多糖類合成途中の炭水化物や代謝途中の炭水化物が含まれているものと考えられる。

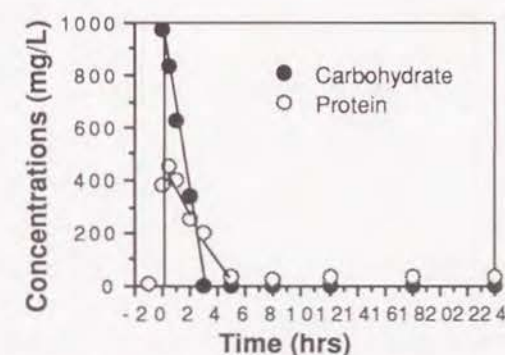
3. 2. 5 グルコース、でんぷんおよびスキムミルクの除去機構

Fig. 3.8に、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水で馴養した活性汚泥に、人工廃水と同一組成の基質を加えて経時的にそれぞれの炭水化物の分析を行った結果を示す。グルコースは液相から素早く除去され、ペプトンはややゆっくりと除去されている。グルコースとペプトンの除去に伴ってMLSSが急激に上昇し、これらが液相から消失した後、MLSSはゆっくりと増加していることがわかる。Fig. 3.8(c)は活性汚泥中の炭水化物の分画の変化を示している。水蒸気抽出によって得られた細胞外炭水化物分画は汚泥量の増加に伴う増加のみでMLSS当たりの量は殆ど変化していない。グルコースなどの単純な溶解性有機物の除去は酵素的な細胞内への取り込みによるもので、吸着等の物理的過程は関係していないことが報告されている⁴²⁾。この場合の細胞外炭水化物は主に細胞外粘性物質を表していると考えられる。一方、水蒸気抽出の後にKOH抽出を行って得られた細胞内多糖類分画は、液相のグルコースが存在する間に急激に増加しその後減少している。活性汚泥微生物は高濃度の炭水化物を含む基質で馴養した場合、多量のグリコーゲン様多糖類を合成することが報告されている^{43),44)}。本抽出方法によって得られた細胞内多糖類は貯蔵されたグリコーゲン様多糖類とみなすことができるであろう。貯蔵多糖類は液相に炭水化物が存在する間は急激に合成されるが、それが消失するとエネルギー源として分解されると考えられる。細胞内多糖類分画が増大しても細胞外炭水化物分画の増加は認められなかったことより、水蒸気抽出の分画には細胞内多糖類はほとんど含まれていないことがわかり、本抽出方法は妥当なものと考えられる。汚泥内全炭水化物から細胞外炭水化物と細胞内多糖類を差し引いた残りの第4分画炭水化物は、汚泥量の増加に伴う増加のみでMLSS当たりのその量に目立った変化は認められなかった。このことは、グルコースは素早く細胞内に透過して代謝分解または多糖類に合成され、蓄積過程は重要な役割を果たさないことを示唆するものである。

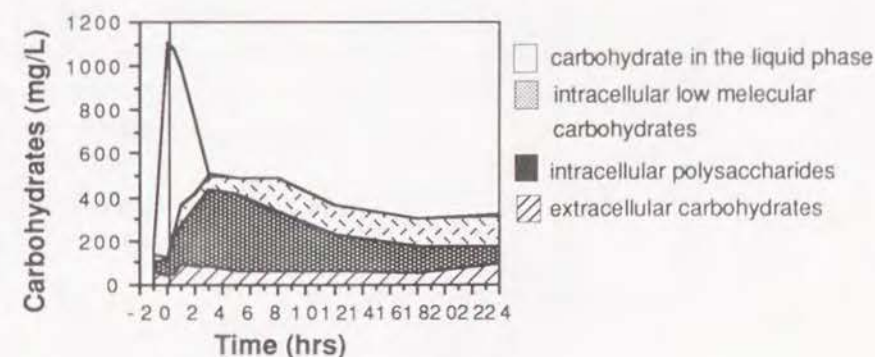
Fig. 3.9に、でんぷんとペプトンを主体とする人工廃水で馴養した活性汚泥の基質除去試験の結果を示す。液相の炭水化物濃度は、でんぷんとその加水分解産物の濃度の和を表しているが、その液相からの除去速度は、グルコースを基質とした場合と比べて遅いことが分かる。でんぷんは、細胞外に吸着され細胞壁近傍に存在する加水分解酵素によって加水分解された後に細胞内に取り込まれると言われている^{45),46)}。第2分画(細胞外分画)の炭水化物は基質を加えた瞬間に急激に増加しているが、これは細胞外へので



(a) MLSS

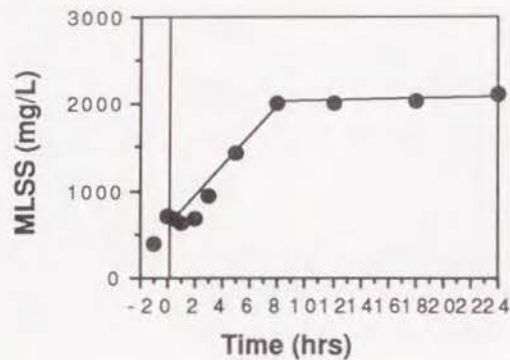


(b) Carbohydrates and protein in the liquid phase.

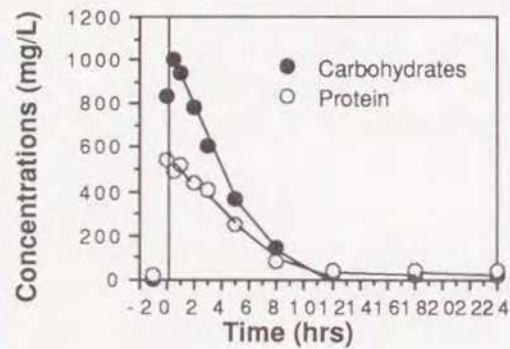


(c) Carbohydrate concentrations in each fractions.

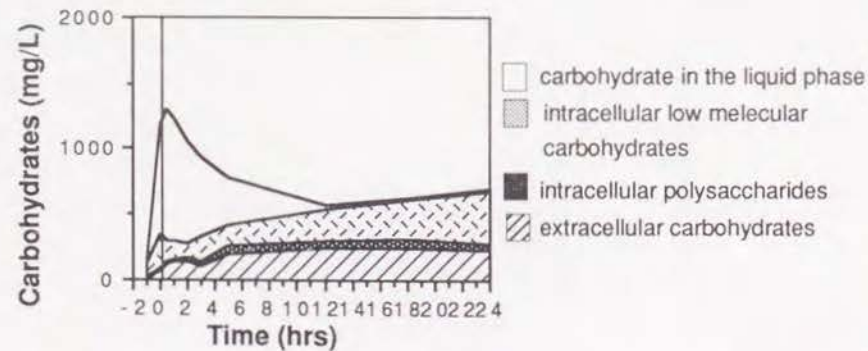
Fig. 3.8 An experimental results of time course of the concentrations of intra- and extracellular carbohydrates and protein when the substrate made up of glucose and peptone was added to the activated sludge which was acclimated to glucose and peptone in laboratory.



(a) MLSS.



(b) Carbohydrates and protein in the liquid phase.



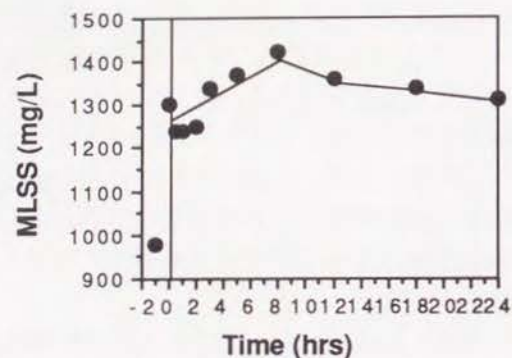
(c) Carbohydrate concentrations in each fraction.

Fig. 3.9 An experimental results of time course of the concentrations of intra- and extracellular carbohydrates and protein when the substrate made up of starch and peptone was added to the activated sludge which was acclimated to starch and peptone in laboratory.

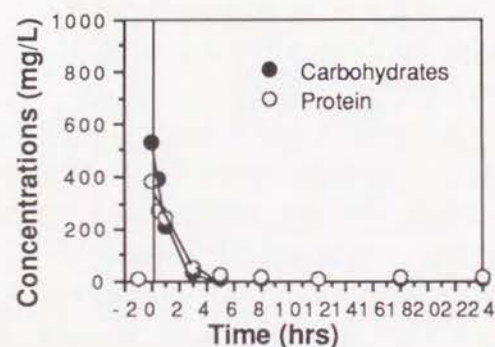
んぶんの吸着を示しているものと考えられる。また、第3分画の細胞内多糖類の増加は殆ど認められない。このことは、吸着されたでんぷんがすべて水蒸気抽出によって除去されていることを示すとともに、でんぷんはグルコースの重合体であるにもかかわらず、細胞内多糖類は合成されないことを示している。これは、でんぷんが急速にフロックに吸着されるが、その後の加水分解が律速となるため細胞内多糖類を合成する余剰の炭水化物が細胞内に残らないことによると考えられる。第4分画の炭水化物が多く定量されたが、この分画には細胞構成成分以外は低分子の炭水化物のみが含まれている。細胞外に吸着された炭水化物が加水分解によって低分子化されてペリプラズム空間等に蓄積されたことを表していると考えられる。

Fig. 3.10 に、スキムミルクで馴養した活性汚泥の基質除去試験の結果を示す。スキムミルク中の乳糖はグルコースとガラクトースから構成された二糖類である。液相からの炭水化物の除去は非常に遅く、グルコースが含まれているにもかかわらず多糖類の合成が少ない事が分かる。*E. coli* ではラクトースの能動輸送経路はグルコースやガラクトースのものとは異なることが知られている⁴⁾。ラクトースの細胞内への輸送がラクトース除去の律速となって、多糖類の合成が少ないものと考えられる。一方、細胞外分画の炭水化物の増減が認められた。この汚泥は、細胞外炭水化物量が他の汚泥に比べて多く粘性のあるフロックを形成しており、糸状性微生物がほとんど存在していない(糸状体長41cm/mgMLSS)にも係わらず沈降性は悪かった(SVIC=244mL/g、通常は100~200mL/gの値を示す)。細胞外炭水化物の増加は、粘性物質の合成を意味していると考えられる。Fig. 3.11 は、スキムミルク馴養汚泥に高濃度のグルコースを単独で与えた場合の実験結果を示す。液相のグルコースが消失する前に多糖類貯蔵量が一定となり、それ以上の貯蔵が行われなくなっている。このことは、多糖類の貯蔵量には飽和値が存在することを示唆するものである。

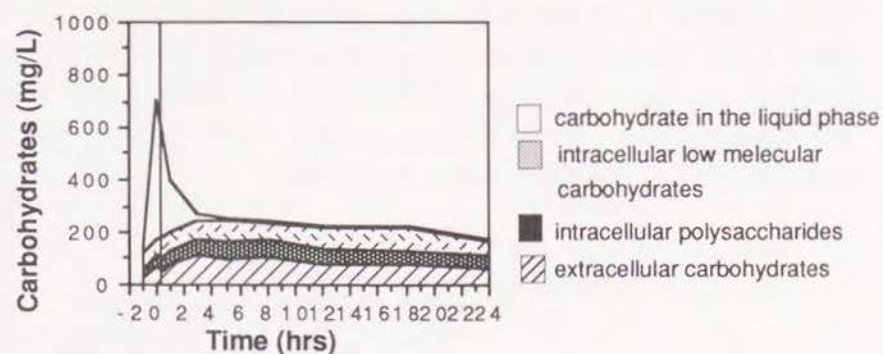
以上の結果より、単に汚泥内の炭水化物の全量のみを測定したり、細胞外の炭水化物の除去を行わずに直接KOH抽出によって細胞内多糖類の抽出を行った場合には、細胞外のポリマーや細胞外に吸着されて分解されていない多糖類を含んだ結果を得るために、間違った解釈を行なう場合があると考えられる。本抽出方法は、活性汚泥の炭水化物代謝機構を理解する上で有効な方法と考えられる。



(a) MLSS

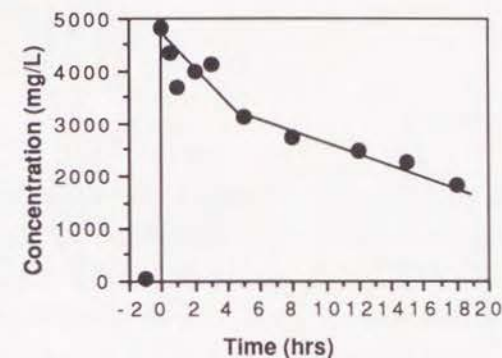


(b) Carbohydrates and protein in the liquid phase.

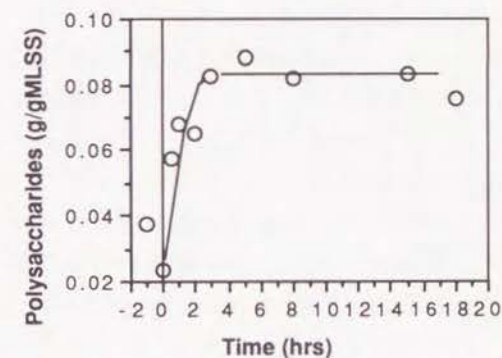


(c) Carbohydrate concentrations in each fraction.

Fig. 3.10 An experimental results of time course of the concentrations of intra- and extracellular carbohydrates and protein when the substrate made up of skimmed milk was added to the activated sludge which was acclimated to skimmed milk in laboratory.



(a) Carbohydrates in the liquid phase.



(b) Intracellular polysaccharides.

Fig. 3.11 An experimental results of time course of the concentrations of intra- and extracellular carbohydrates and protein when glucose was added to the activated sludge which was acclimated to skimmed milk in laboratory.

第3節 活性汚泥の沈降性と多糖類貯蔵能力および炭水化物代謝速度の関係

3.1 実験方法

3.1.1 活性汚泥の培養

Fig. 3.12 に示す4種類の装置を用いてRun 3.1 からRun 3.19の19種類の運転を行った。運転条件と用いた人工廃水の組成をTable 3.6 に示す。運転開始には、Run 3.6以外は金沢市内のA下水処理場返送汚泥を種汚泥として用いた。装置Aは回分式装置であり、この装置を用いてRun 3.1～Run 3.14の運転を行った。Run 3.5を除くすべての運転において、容積負荷は一定とし、廃水の注入様式のみを変化させた運転を行っている。Run 3.1～Run 3.6は廃水の注入を一度に行う方式（Sequential fill and draw方式）を採用している。Run 3.1では廃水を注入後2時間曝気し1時間沈澱させたのち速やかに上澄みを14L排出し、再び14Lの廃水の注入を行なうという、1サイクル3時間の工程を1日8回繰り返すものである。Run 3.2～Run 3.4も同様に1日4回、2回および1回廃水を注入するサイクルを繰り返す運転である。Run 3.5は1日4回廃水を注入するサイクルで容積負荷を4倍に設定した運転である。Run 3.6は1日4回廃水を注入するサイクルで、バルキング汚泥を種汚泥としてその変化を調べたものであり、無機塩の組成が異なっているが有機物負荷はRun 3.1～Run 3.4と同一である。Run 3.7～Run 3.14は曝気を行いながら種々の速度で連続的に廃水注入を行なった（Sequential fed batch方式）。Run 3.7～Run 3.10では6時間を1サイクルとして1日4回の工程を繰り返す運転であり、注入時間はそれぞれ40分および1、1.5、2時間に設定した。廃水注入後、曝気開始から5時間目まで曝気を続け、その後1時間沈澱排出したのち再び廃水注入を開始するものである。Run 3.11～Run 3.14では24時間を1サイクルとして1日1回の工程を繰り返す運転であり、廃水注入時間を2、6、8および23時間に設定した。いずれの運転でも、余剰汚泥として1日1回沈澱の直前の混合液から4Lを引き抜いた。

Run 3.15、Run 3.16で用いた連続装置Bは20Lの仕切りのない完全混合型の曝気槽と20Lの沈澱槽からなっている。Run 3.15では流入流量を10mL/minに、Run 3.15では40mL/minに設定した運転を行った。廃水濃度はRun 3.16はRun 3.15の4倍に設定してあるため、両者の容積負荷は同一である。また、これは装置Aを用いたRun 3.1～Run 3.14（Run 3.5を除く）と類似の容積負荷である。いずれも、余剰汚泥として1日1回曝気槽から4Lを引き抜いた。沈降性が悪くなると汚泥の流出が起こり、SRTを一定に保つことができなかった。容積負荷がRun 3.1～Run 3.4 およびRun 3.7～Run 3.16で一定であるにも関わらず、汚泥濃度は運転によってばらつき、F/M比も様々な値となった。

Run 3.17およびRun 3.18で用いた連続装置Cは、20Lの完全混合型の曝気槽と10Lの沈澱槽からなっており、廃水は滅菌して用いた。装置への容積負荷はRun 3.1～Run 3.16の1/2および1/4に設定した。Run 3.19で用いた連続培養装置Dは曝気槽が8槽に仕切られており第1槽目に人工排水と返送汚泥が流入する。装置CおよびDでは余剰汚泥の引き抜

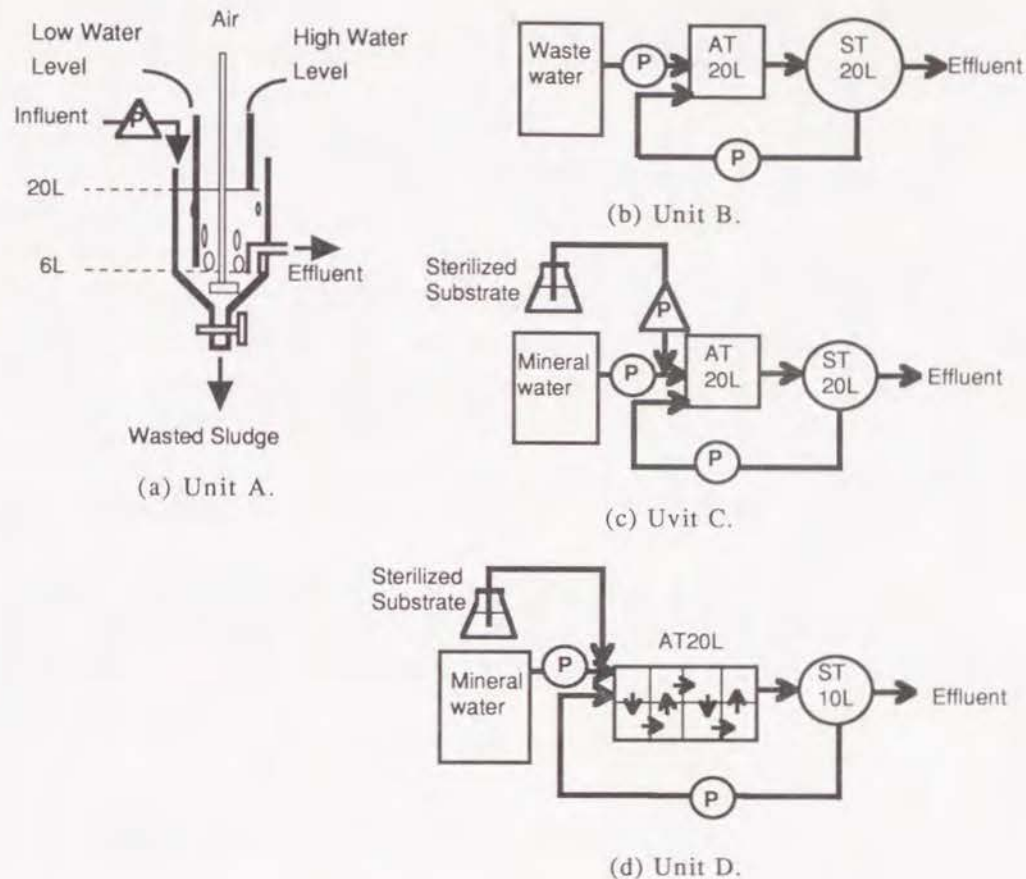


Fig. 3.12 Experimental set up of the cultivation of activated sludge.

きは1日1回曝気槽容積の1/20にあたる1Lとした。

運転開始後、経日的にMLSS、SVI、及びSVICの測定を行った。SVICは SV_{30} が30%以下になるよう希釈することによってMLSSの影響を少なくして求めたSVIであり、筆者らはこの値が糸状性細菌の現存量と密接な関係にあることを報告している（第二章参照）。SVIC値は糸状性細菌の殆ど存在しない沈降性の良好な汚泥では100～200 mL/gの値を示し、糸状性細菌の長さが 10^3 cm/mgMLSS以上になると急激にその値が増加する。本実験では時折沈降性が非常に悪化して、16倍に希釈しても汚泥界面が現れない場合があった。この場合にはSVICは計測不可能であり、本論文ではこれを ∞ と記した。このような場合にはSVICのみでは沈降性の評価はできないため、糸状体長の計測が重要である。後に述べる能力試験を行った汚泥に関しては糸状体長の計測を行った。

Table 3.6 Experimental Conditions of Cultivation of Activated Sludges.

Run No.	Type of cultivation and experimental unit	feeding schedule			SRT (day)	Substrate	Volumetric CODCr loading (g COD/L·day)	MLSS (mg/L)	F/M ratio		Loading Rate (LR) (gCOD/L·hr.)	Hungry Time Ratio
		Cycle or Rate	Feeding time	Aeration time	Settling time				(gCOD/L·day)	(gMLSS/day)		
Run 3.1	fill and draw A	8 times-a-day	0.01	2	1	5	1/8GP1	1.47	1085	1.35	11.03	4.71
Run 3.2	fill and draw A	4 times-a-day	0.01	5	1	5	1/4GP1	1.47	1723	0.85	22.05	8.52
Run 3.3	fill and draw A	twice-a-day	0.01	11	1	5	1/2GP1	1.47	1841	0.80	44.10	19.95
Run 3.4	fill and draw A	once-a-day	0.01	23	1	5	GP1	1.47	2083	0.71	88.20	31.86
Run 3.5	fill and draw A	4 times-a-day	0.01	5	1	5	GP1	5.88	1127	5.21	88.20	0.20
Run 3.6	fill and draw A	4 times-a-day	0.01	5	1	5	1/4GP2	1.47	1520	0.97	22.05	7.06
Run 3.7	fed batch A	4 times-a-day	0.67	4.33	1	5	1/4GP1	1.47	2260	0.65	0.548	7.05
Run 3.8	fed batch A	4 times-a-day	1.0	4.0	1	5	1/4GP1	1.47	1112	1.32	0.368	4.00
Run 3.9	fed batch A	4 times-a-day	1.5	3.5	1	5	1/4GP1	1.47	418	3.52	0.245	2.33
Run 3.10	fed batch A	4 times-a-day	2.0	3.0	1	5	1/4GP1	1.47	1130	1.30	0.184	1.50
Run 3.11	fed batch A	once-a-day	2.0	21.0	1	5	GP1	1.47	2282	0.64	0.735	10.50
Run 3.12	fed batch A	once-a-day	6.0	17.0	1	5	GP1	1.47	2488	0.59	0.245	2.83
Run 3.13	fed batch A	once-a-day	8.0	15.0	1	5	GP1	1.47	1647	0.89	0.184	1.88
Run 3.14	fed batch A	once-a-day	23.0	0	1	5	GP1	1.47	777	1.89	0.064	0
Run 3.15	continuous B	10 mL/min	16.7	0	16.7	5	GP1	1.51	854	1.77	0.063	0
Run 3.16	continuous B	40 mL/min	4.2	0	4.2	5	1/4GP3	1.51	433	3.49	0.063	0
Run 3.17	continuous C	40 mL/min	4.2	0	2.1	5	1/8GP3	0.76	766	1.00	0.032	0
Run 3.18	continuous C	20 mL/min	8.3	0	4.2	20	1/8GP3	0.38	728	0.53	0.016	0
Run 3.19	continuous D	20 mL/min	1.04	7.26	4.2	20	1/8GP3	0.38	399	0.95	0.126	8.0

Substrate compositions

GP1 : glucose 1.0 g/L, peptone 1.0 g/L, glycylglycine 0.01 g/L, KH_2PO_4 0.09 g/L
 GP2 : glucose 1.0 g/L, peptone 1.0 g/L, $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 0.3 g/L, KH_2PO_4 0.3 g/L, NaHCO_3 0.6 g/L
 GP3 : glucose 1.0 g/L, peptone 1.0 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.1 g/L, KH_2PO_4 0.1 g/L

3. 1. 2 活性汚泥能力試験方法

前述の方法で培養開始し15日以上経過した後、その余剰汚泥を用いて、前節の基質除去試験とよく似た方法で回分式の能力試験を行った。まず、初期値として余剰汚泥のMLSS、SVI及びSVICを測定し、第2節で開発したFig. 3.6 に示す系統図に従って各成分の抽出を行う。残りの汚泥4Lを約一時間沈殿させた後、上澄みを排出して培養基質と同成分の基質を加え全量を4Lとする。この混合液を攪拌した後、素早く0時のサンプリング（約250 mL）を行い、曝気を開始する。24時間目まで経時的にサンプリングを行い、それぞれのサンプルについてFig. 3.6で示す系統的な抽出を行う。抽出液中の炭水化物の濃度の測定にはアンスロン法を、蛋白質の濃度の測定にはローリー法を用いた。また、PHBの測定にはDisc assayを用いた。実験結果より貯蔵多糖類の最大値を求め、それを多糖類貯蔵能力とした。汚泥濃度が高い場合には、基質除去速度が速く、貯蔵多糖類の最大値を得ることが出来ない場合があったため、このような場合にはMLSSが最終濃度で約1,000mg/Lとなるように汚泥を希釈して用いた。それでも最大値が得られない場合には加える基質濃度を2倍とした。

3. 1. 3 活性汚泥装置試験方法

回分式装置により廃水の連続注入を行ったRun 3.7 ~ Run 3.14では、任意の1サイクルについて装置内の炭水化物の変化を能力試験と同様の方法で調べた。また、連続装置では各槽の水質の測定も行った。

3. 2 実験結果と考察

3. 2. 1 生成汚泥の性状と出現糸状性細菌

Fig. 3.13は、廃水を一度に添加する回分方式 (Run 3.1 ~ Run 3.6) のMLSSとSVICの経日変化を示したものである。Run 3.1では、運転開始から2週間目から沈降性が悪化して汚泥の流出が始まり、MLSSが低下している。汚泥中には*Sphaerotilus natans* と糸状性の菌類が存在していた。Run 3.2、Run 3.3およびRun 3.4では、運転期間を通じて沈降性は良好で糸状性細菌は殆ど認められなかった。Run 3.2では、種汚泥の濃度が低かったため、MLSSが安定するのに時間を要しているが、最終濃度で2,000mg/L程度で安定した。Run 3.3、Run 3.4では53日目以降フロックがやや膨化してSVICが幾分上昇しているが、バルキング状態には至らなかった。Run 3.5では、容積負荷が高いため当初MLSSが上昇したが、5日目から*Sphaerotilus natans* の増殖により沈降性が悪化し、汚泥の流出が始まってMLSSが900mg/Lまで低下した。Run 3.5で用いた種汚泥は*Sphaerotilus natans* の増殖によりバルキング状態であり、汚泥中の*Sphaerotilus natans* の現存量は1,240cm/mgMLSS、SVICは611mL/gであった。運転開始から10日目から沈降性が回復しはじめ、20日で糸状体長538cm/mgMLSS、SVIC219mL/gにまで減少した。しかし、その後Type 021Nの増殖によるバルキング状態に至った。これは、人工廃水中に硫酸塩を添加したために、硫酸塩還元が起こったことに起因すると考えられるが、このType 021Nの増殖によるバルキングに関しては、第4章で取り扱うこととする。

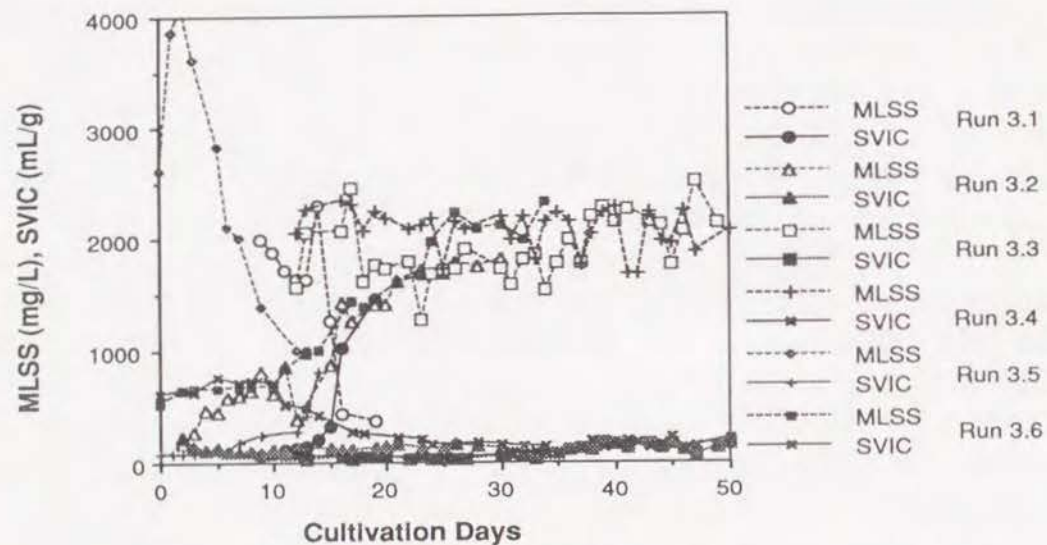


Fig. 3.13 The time courses of MLSS and SVIC in the sequential fill and draw system (Run 3.1~Run 3.6).

Fig. 3.14は、1日4回廃水を連続的に添加する回分運転のRun 3.7~Run 3.10のMLSSとSVICの経日変化を示したものである。Run 3.7を除いて全て1週間以内で*Sphaerotilus natans*によるバルキングが発生した。バルキングが発生していないRun 3.7はMLSS 2,000mg/L程度で安定したが、その他は、汚泥の流出により500mg/L以下に低下した。Fig. 3.15は1日1回廃水を連続的に添加する回分運転のRun 3.11~Run 3.14のMLSSとSVICの経日変化を示したものである。Run 3.11では、沈降性が良好で糸状性細菌の増殖は認められなかった。Run 3.12では、当初沈降性は良好であったが2週間経過した頃から*Sphaerotilus natans*によるバルキングが発生した。Run 3.13、Run 3.14では、直ちにバルキング状態に至っている。注入時間が長いと糸状性細菌の増殖が速い傾向が認められた。

Fig. 3.16は、連続方式で運転を行なったRun 3.15~Run 3.19のMLSSとSVICの経日変化を示している。全ての運転条件において*Sphaerotilus natans*によるバルキングが発生した。汚泥の流出と返送ラインの詰まりにより安定した運転はできなかったため、MLSS、SVIC共に大きな変化を示している。曝気槽を区切るとバルキングが抑制されることがよく知られているが、本実験では曝気槽を8槽に区切ったRun 3.19の条件でもバルキングは抑制されなかった。300mL程度の大きさの接触槽を曝気槽の前に設けた実験を行なったが、フロックが巨大化し接触槽に汚泥が長時間滞留するため、運転を継続することが困難であった。

Table 3.7に、各運転条件で生成した汚泥の性状と出現糸状性細菌をまとめて示す。また、Photo. 3.1に代表例としてRun 3.15で生成した活性汚泥の顕微鏡写真を示した。糸状性細菌が多量に増殖しており、明らかに糸状性バルキング状態である。*Sphaerotilus natans*の特徴である擬分岐が所々に認められる。

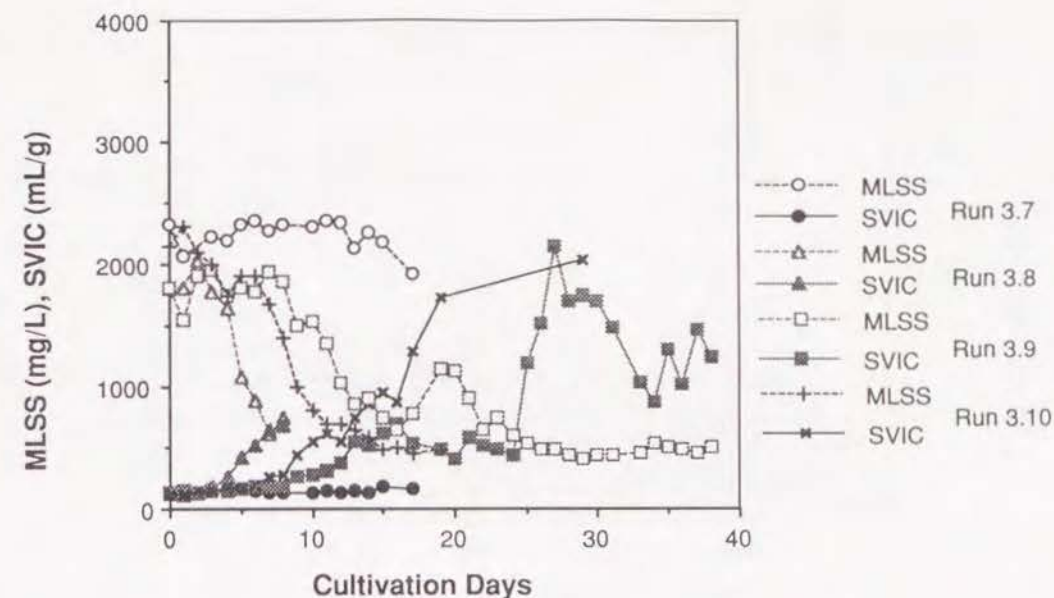


Fig. 3.14 The time courses of MLSS and SVIC in the sequential fed batch system operated in the manner of four times-a-day feeding schedule (Run 3.7~Run 3.10).

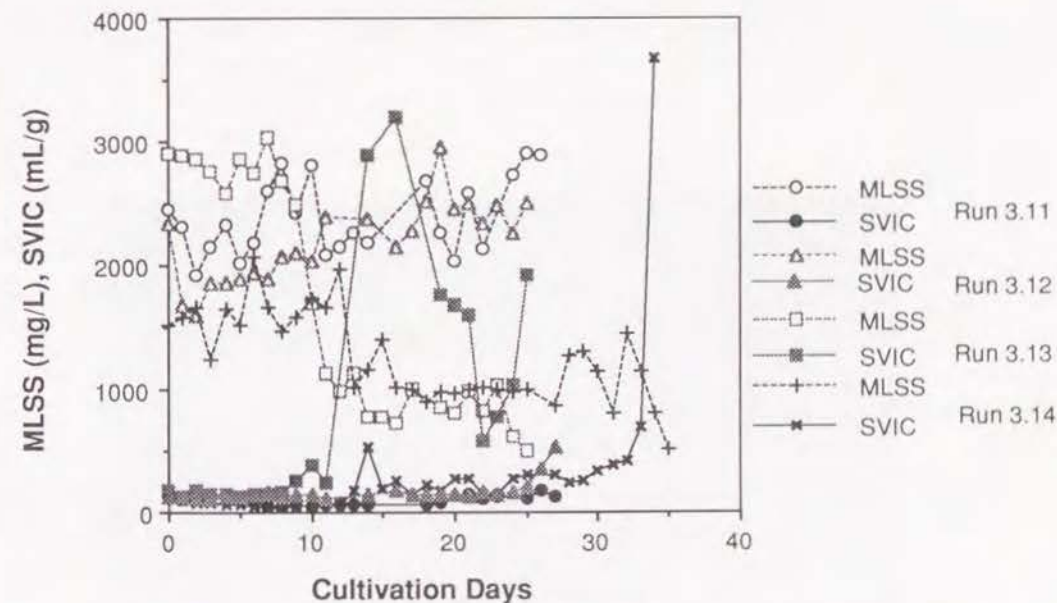


Fig. 3.15 The time courses of MLSS and SVIC in the sequential fed batch system operated in the manner of once-a-day feeding schedule (Run 3.11~Run 3.14).

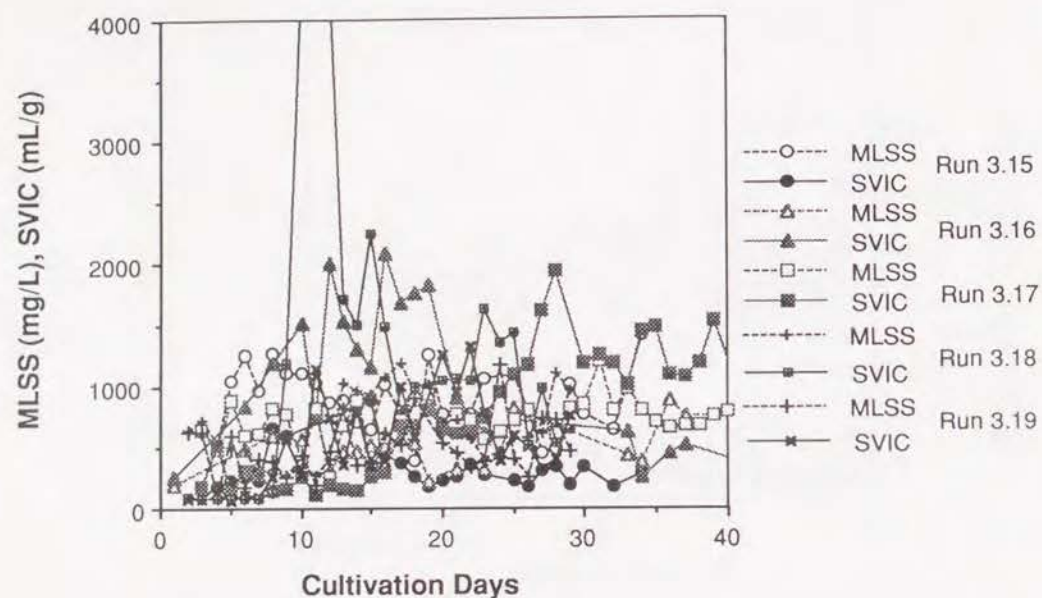


Fig. 3.16 The time courses of MLSS and SVIC in the continuous system (Run 3.15~Run 3.19).

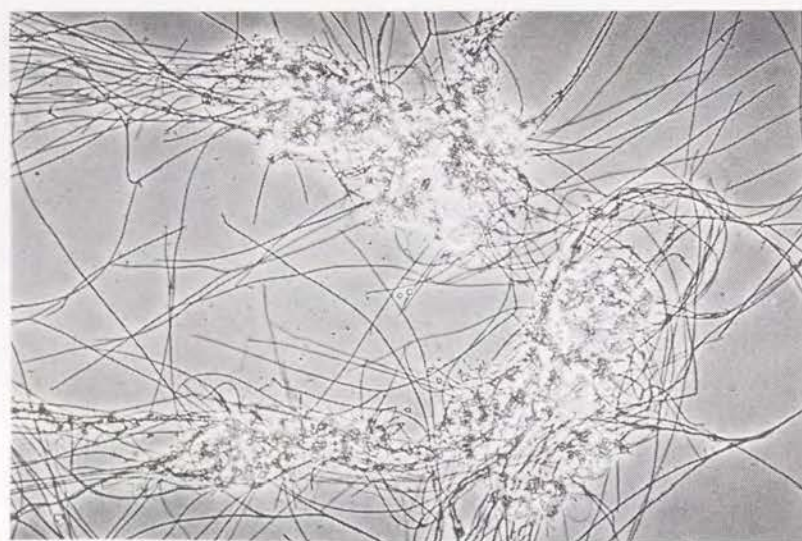


Photo. 3.1 Activated sludge of Run 3.15.

Table 3.7 Characteristics of the produced sludge and predominant filamentous bacteria in the sludge.

Run	MLSS (mg/L)	SVIC (mL/g)	Filamentous Length (cm/mg)	Predominant Filamentous Bacteria
Run 3.1	1085	833	472	<i>S. natans</i> , Funzi
Run 3.2	1723	117	56	Seldom
Run 3.3	1841	85	42	Seldom
Run 3.4	2083	99	41	Seldom
Run 3.5	1127	228	555	<i>S. natans</i>
Run 3.6	1520	217	2103	Type 021N
Run 3.7	2260	156	343	<i>S. natans</i>
Run 3.8	1112	451	220	Seldom
Run 3.9	418	1392	2807	<i>S. natans</i>
Run 3.10	1130	519	2034	<i>S. natans</i>
Run 3.11	2282	196	131	Seldom
Run 3.12	2488	133	724	<i>S. natans</i>
Run 3.13	1647	2349	1431	<i>S. natans</i>
Run 3.14	777	∞	16600	<i>S. natans</i>
Run 3.15	854	339	2244	<i>S. natans</i>
Run 3.16	433	1909	5590	<i>S. natans</i>
Run 3.17	766	1055	9350	<i>S. natans</i>
Run 3.18	728	1807	8150	<i>S. natans</i>
Run 3.19	399	660	7209	<i>S. natans</i>

活性汚泥の運転条件と沈降性の関係については、様々な報告があるが、特にF/M比と沈降性の間の関係は古くから論じられてきた。容積負荷を等しく設定したRun 3.1~Run 3.16 (Run 3.5を除く) では、沈降性悪化による汚泥の流出がない場合は、F/M比はほぼ等しくなるが、汚泥の流出によってMLSSが減少した場合には結果としてF/M比が小さくなった。Fig. 3.17、Fig.3.18に、本実験

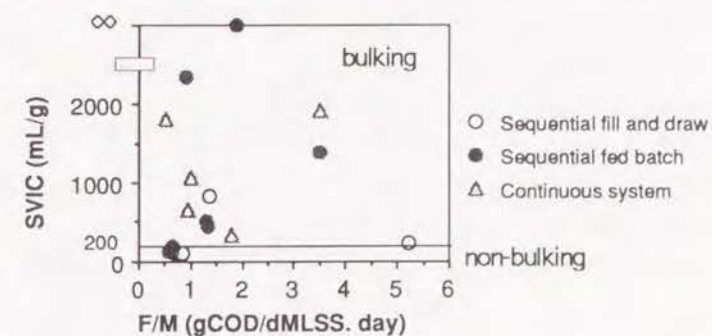


Fig. 3.17 Relationship between F/M and average SVIC.

において運転が定常になってからの平均F/M比と生成汚泥の平均SVICおよび能力試験を行った日に測定した糸状体長の関係を示す。両者の間には明確な関係は認められなかった。F/M比は活性汚泥の汚泥管理の指標として重要な因子ではあるが、汚泥の微生物相の決定因子ではないと考えられる。

一方、汚泥のRegenerationが沈降性に大きく影響することが指摘されている。安田⁴⁸⁾は基質が除去されてからの曝気時間(飢餓時間と定義)と基質除去に要する時間の比を「飢餓時間比」と定義し、飢餓時間比が大きい場合に沈降性が良好となることを実験的に証明している。Grau⁴⁹⁾は、Accumulation-regeneration theoryを提唱し、汚泥の回復期(Regeneration time)が短い場合には、汚泥はその蓄積能力(Accumulation Capacity)を回復することができず、その結果蓄積能力の小さな糸状性細菌が増殖し汚泥の沈降性が悪化すると報告している。

Fig. 3.19、Fig. 3.20は本実験における飢餓時間比と平均SVICおよび実験日の糸状体長の関係を示したものである。飢餓時間が長いと沈降性が良好となり糸状体長も減少する傾向が認められ、上記の説をほぼ支持する結果となった。しかし、Run 3.19では充分な飢餓時間比があるにもかかわらず沈降性は悪かったことや、飢餓時間比の小さな領域で両者の関係が明確でないことなど、このパラメータのみでは説明できない部分が多く存在した。これは、飢餓時間比の中に、有機物負荷が含まれていないためと考えられる。有機物負荷もまた、微生物相を

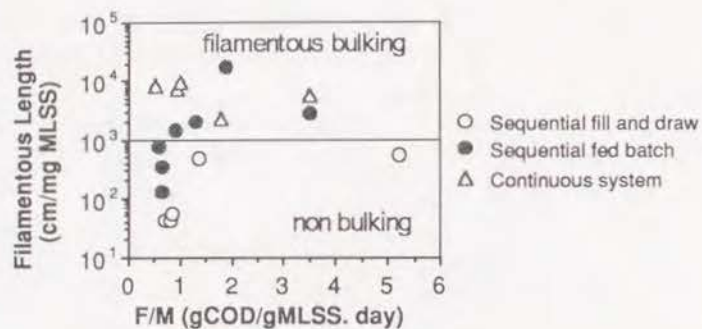


Fig. 3.18 Relationship between F/M and total length of filamentous bacteria in the produced sludge.

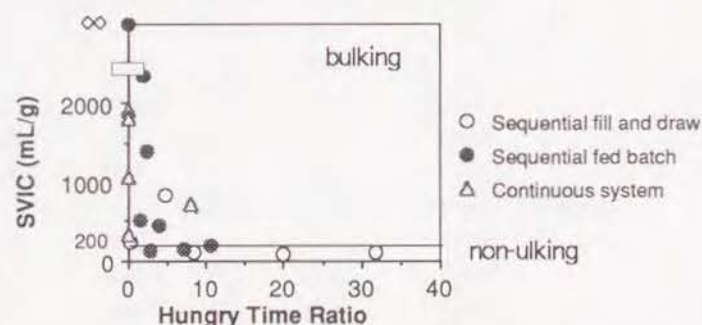


Fig. 3.19 Relationship between hungry time ratio and average SVIC.

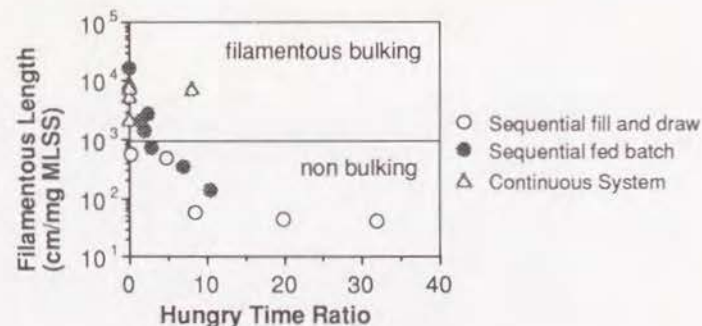


Fig. 3.20 Relationship between hungry time ratio and filamentous length of produced sludge.

決定する重要な因子と考えられるが、F/M比のように1日当たりの負荷ではなく、基質と汚泥が接触している期間中の負荷が重要と考えられるため、本研究では最終容積1Lの反応槽に1時間当たりに負荷されるCOD量を負荷速度と定義する。負荷速度は以下の様に計算する。回分培養の場合には、全容積Vの反応槽に、濃度 S_i の廃水が流量Qで負荷されたとすると、容積負荷速度LRは以下のように計算できる。

$$LR = \frac{S_i \times Q}{V} \quad (3.1)$$

連続培養の場合には、容積 V_0 の曝気槽第1槽目(完全混合槽の場合には曝気槽)に濃度を S_i の廃水が流量Qで負荷された場合の負荷速度は同様に、以下ようになる。

$$LR = \frac{S_i \times Q}{V_0} \quad (3.2)$$

Fig. 3.21、Fig. 3.22は負荷速度と生成汚泥の平均SVICおよび実験日の糸状体長の関係を示す。負荷速度が $0.5 \text{ gCOD}_c/\text{L.hr.}$ 以下の運転では、*Sphaerotilus natans*が多く増殖した、沈降性の悪い汚泥が生成されていることがわかる。しかし、Run 3.1やRun 3.5では負荷速度が11.0及び88.2 $\text{gCOD}_c/\text{L.hr.}$ と他のものに比べて大きいにも関わらず、沈降性がやや悪く糸状性細菌の現存量の多い汚泥が生成されている。これは、Run 3.1とRun 3.5の運転条件では飢餓時間比が4.7及び0.2と短かったためと考えられる。

Fig. 3.23、Fig. 3.24は負荷速度と飢餓時間比の関係をSVICおよび糸状体長をパラメータとして示したものである。負荷速度が $0.5 \text{ gCOD}_c/\text{L.hr.}$ 以上でかつ飢餓時間比が5以上の領域でSVICが 200 mL/g 以下で糸状体長 10^3 cm/mgMLSS 以下と糸状性細菌の現存量が少なく沈降性の良好な汚泥が生成されるが、負荷速度と飢餓時間の何方か一方でもこれらの値より小さい場合に

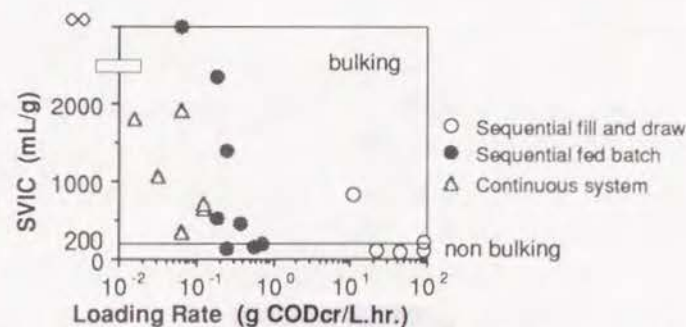


Fig. 3.21 Relationship between the loading rate and average SVIC.

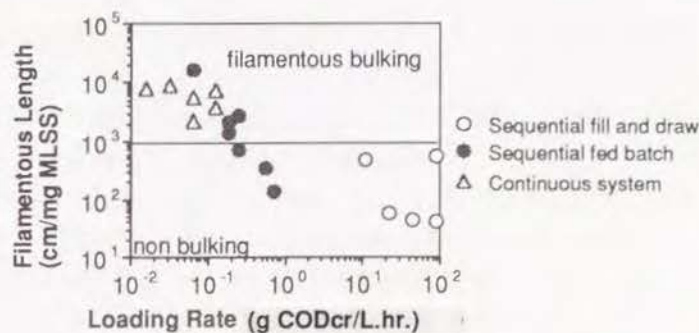


Fig. 3.22 Relationship between the loading rate and filamentous length of produced sludge.

は糸状性細菌の増殖によるバルキングが発生することがわかる。即ち、飢餓時間比と負荷速度の両者が汚泥中の微生物相の決定因子となっていることが示唆された。

3. 2. 2 能力試験結果

Fig. 3.25 に、能力試験結果の典型例としてRun 3.7の活性汚泥にグルコースとペプトンを添加した場合の液相の基質濃度の変化、微生物濃度の変化および汚泥内炭水化物の変化を示す。時間0の値は基質を添加した直後の試料について分析を行った結果であり、初期値(initial value)は試験に用いた汚泥の基質添加前の値である。第2節の基質除去試験で得られた結果と同様に、グルコースは液相から直線的に素早く除去されている。実験に用いたペプトンの約20%を占めるアミノ酸の除去は素早く直線的であるが、ローリー法で検出される蛋白質の除去速度は一次反応的でゆるやかであった。これは蛋白質の除去が加水分解律速となっていることを示唆するものである。MLSSは液相の基質の消失に伴って急激に増加し、その後ゆるやかな増加を続けている。MLSSには貯蔵物質を含んでいるため、直接微生物量を表すものではない。微生物量の指標としては、ATP^{(50), (51), (52)} やDNA⁽⁵³⁾、RNA⁽⁵⁴⁾、蛋白質^{(55), (56)}、活性MLSS⁽⁵⁷⁾などが提案されているが、ATPやRNAは測定が煩雑であるため本研究では測定は行わなかった。汚泥内全蛋白質量の測定は一部行っているが、本実験で用いた基質中に蛋白質を含んでいるためその吸着量も含まれてきて適切な値は得られなかった。MLSSは電子式水分計により測定したためにばらつきの小さい値が得られたので、MLSSを用いた微生物量の指標として、初期値からの汚泥内全炭水化物の増加量をMLSSから差し引いた値を微生物量とした。微生物は細胞構成成分としての炭水化物を一定量含み、その量は時間経過とともに変化することはないと仮定すると、微生物濃度は次式で与えられる。

$$M_t = MLSS_t - \left(\frac{TC_t}{MLSS_t} - \frac{TC_i}{MLSS_i} \right) \times MLSS_i \quad (3.3)$$

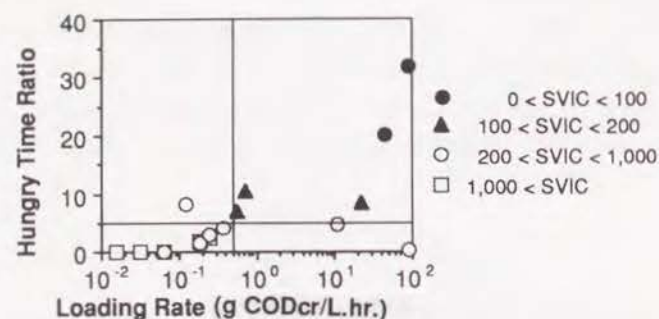


Fig. 3.23 Relationship between loading rate and hungry time ratio with the parameter of average SVIC.

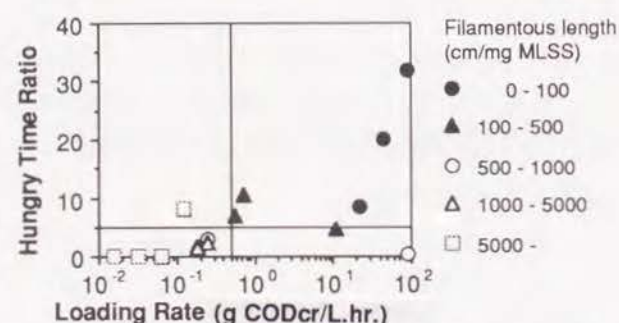
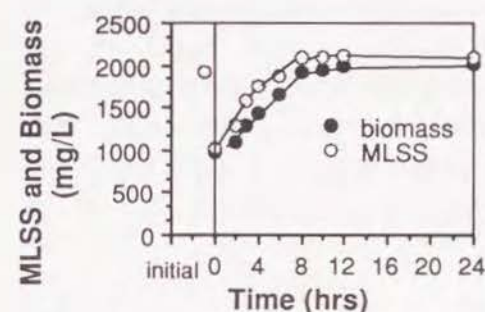


Fig. 3.24 Relationship between loading rate and hungry time ratio with the parameter of filamentous length.

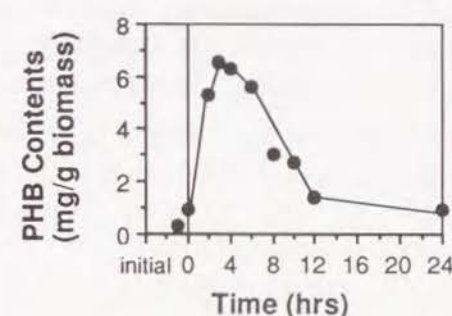
に、グルコースは液相から直線的に素早く除去されている。実験に用いたペプトンの約20%を占めるアミノ酸の除去は素早く直線的であるが、ローリー法で検出される蛋白質の除去速度は一次反応的でゆるやかであった。これは蛋白質の除去が加水分解律速となっていることを示唆するものである。MLSSは液相の基質の消失に伴って急激に増加し、その後ゆるやかな増加を続けている。MLSSには貯蔵物質を含んでいるため、直接微生物量を表すものではない。微生物量の指標としては、ATP^{(50), (51), (52)} やDNA⁽⁵³⁾、RNA⁽⁵⁴⁾、蛋白質^{(55), (56)}、活性MLSS⁽⁵⁷⁾などが提案されているが、ATPやRNAは測定が煩雑であるため本研究では測定は行わなかった。汚泥内全蛋白質量の測定は一部行っているが、本実験で用いた基質中に蛋白質を含んでいるためその吸着量も含まれてきて適切な値は得られなかった。MLSSは電子式水分計により測定したためにばらつきの小さい値が得られたので、MLSSを用いた微生物量の指標として、初期値からの汚泥内全炭水化物の増加量をMLSSから差し引いた値を微生物量とした。微生物は細胞構成成分としての炭水化物を一定量含み、その量は時間経過とともに変化することはないと仮定すると、微生物濃度は次式で与えられる。

M_t : t 時間目の微生物量 (mg/L)
 $MLSS_t$: t 時間目のMLSS (mg/L)
 $MLSS_i$: 0 時間目のMLSS (mg/L)
 TC_t : t 時間目の汚泥内全炭水化物濃度 (mg/L)
 TC_i : 0 時間目の汚泥内全炭水化物濃度 (mg/L)

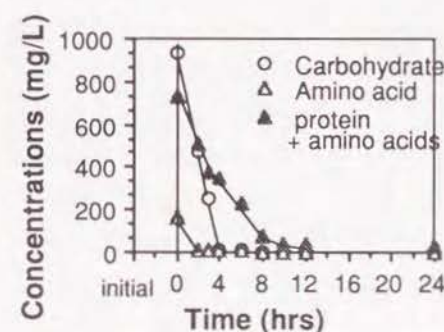
このようにして求めた微生物量の変化をFig. 3.25 (a)にMLSSと共に示してあるが、



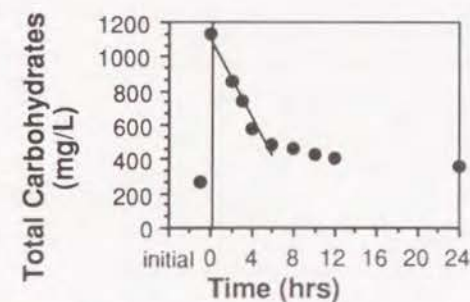
(a) MLSS and biomass concentrations.



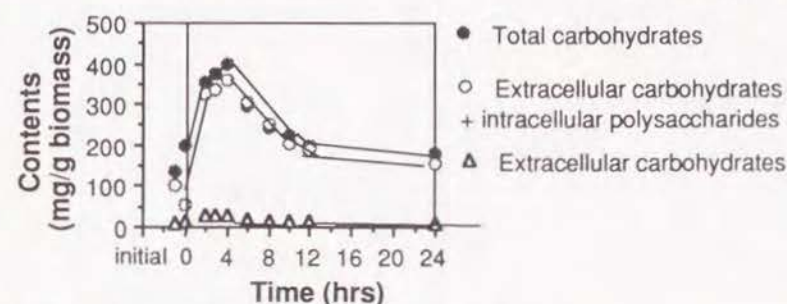
(d) PHB contents in the floc.



(b) Substrates in the liquid phase.



(e) Total carbohydrates in the mixed liquor.



(c) Carbohydrate contents in the floc.

Fig. 3.25 An experimental result of time course of the concentrations of intra- and extracellular carbohydrates obtained in the capacity test with the activated sludge of Run 3.7

MLSSと同様に増加している。

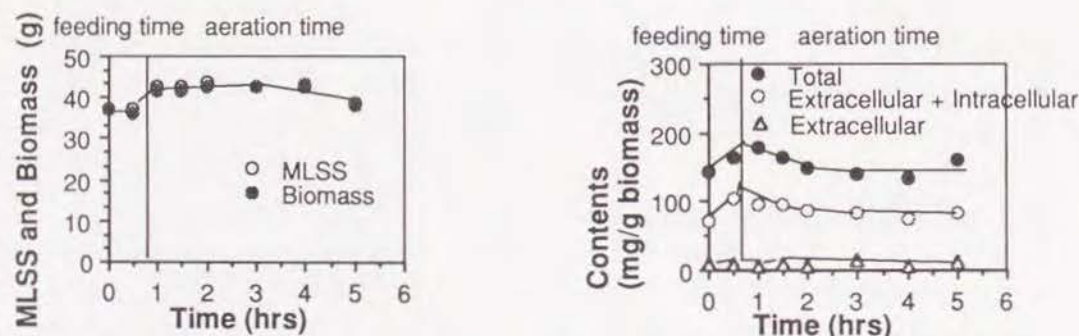
Fig. 3.25 (c)は汚泥内のそれぞれの分画に検出された炭水化物量を微生物量当たりで示したものである。細胞外炭水化物は殆ど一定であり、細胞内多糖類が炭水化物の除去に伴って合成されその後分解されていることがわかる。本研究では液相中に利用可能な基質が存在する間は貯蔵物質が分解されることはないと仮定して、貯蔵量の最大値をその貯蔵能力(ここでは飽和貯蔵容量と定義する)と見做すこととする。

Fig. 3.25 (d)の微生物量当たりで示したPHB量もまた、多糖類と同様に増加した後減少しており、PHBを貯蔵する微生物も汚泥内に生育していることがわかる。しかし、その量は最大でも6.8mg/g biomassと多糖類と比較すると1/10以下であった。PHBについても実験より得られた最大値を飽和貯蔵容量と定義する。

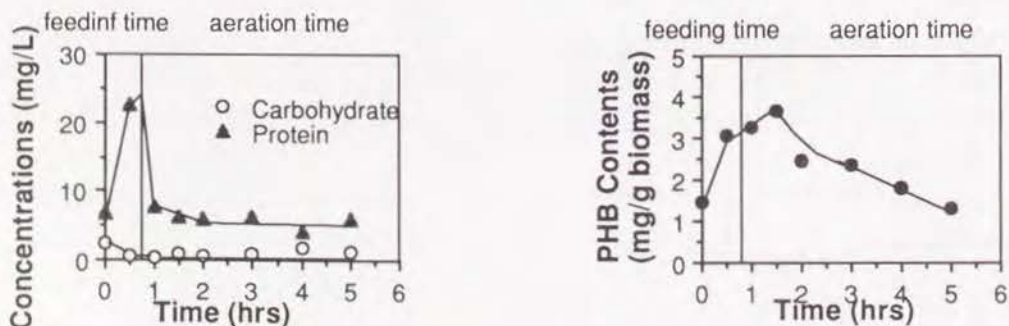
Fig. 3.25 (e)に示す混合液内全炭水化物は、液相の炭水化物濃度と汚泥内全炭水化物濃度の和を表しており、この変化は炭水化物の代謝分解を表していると考えられる。混合液内全炭水化物はほぼ直線的に減少しており、炭水化物代謝速度は0次反応で表すことができる。

3. 2. 3 装置内試験結果

Fig. 3.26は回分装置の装置内試験の典型例としてRun 3.7の結果を示している。廃水流



(a) MLSS and biomass volume in the tank. (c) Carbohydrate contents in the floc.



(b) Substrates in the liquid phase.

(d) PHB contents in the floc.

Fig 3.26 An experimental result of the unit test of Run 3.7.

入中でも炭水化物はその除去が速いため液相中に殆ど検出されてこないが、蛋白質はやや検出されている。また、廃水流入中に貯蔵多糖類の増加が認められるが、その量は能力試験で得られた飽和貯蔵容量と比較すると非常に少なかった。このことより、活性汚泥微生物は生存および増殖に必要なもの以外の余分の炭水化物のみを細胞内に貯蔵していると考えられる。PHBの含有量は、廃水注入中にやや増加し、廃水注入後も蛋白質の除去にともなって増加した後分解されており、貯蔵物質としての働きを担っていると考えられるが、能力試験と同様にその絶対量は多糖類と比較して1/10以下であった。

連続装置の曝気槽に仕切のないRun 3.15~Run 3.18では、曝気槽内の水質を測定した結果、炭水化物は全く検出されず蛋白質も微量に検出されたのみであった。曝気槽を8槽に仕切ったRun 3.19では、曝気槽1槽目に炭水化物は検出されなかったが、蛋白質が30mg/L程度検出された。場気槽流出水中には、炭水化物も蛋白質もほとんど検出されなかった。

3. 2. 4 多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度

Fig. 3.27 に、運転期間中の平均F/M比と生成汚泥の多糖類およびPHB貯蔵容量の関係を示す。F/M比と多糖類貯蔵容量およびPHB貯蔵容量の間には明らかな関係は認められなかった。Walters ら⁵⁵⁾は、グルコースを基質として24時間サイクル(一日一回基質投入)の回分式で種々の基質濃度における培養を行い、F/M比が増加すると多糖類貯蔵能力及びPHB貯蔵容量が増加すると述べている。しかし、本研究により、運転条件を種々に設定するとF/M比は汚泥の貯蔵能力には関係しないことが分かった。Walters らの実験条件ではF/M比が大きい場合には負荷速度が大きく、飢餓時間比はやや小さくなる。貯蔵能力に影響を与えたのは、一日当たりの負荷量である

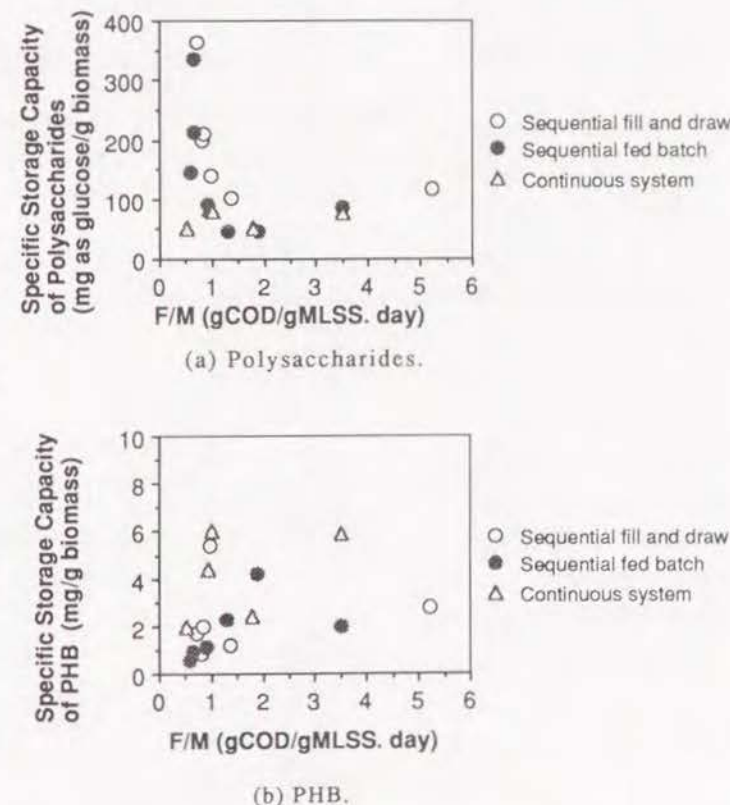


Fig. 3.27 Relationship between F/M and the specific storage capacities of polysaccharides and PHB of the produced activated sludge.

F/M比ではなくて、負荷速度と飢餓時間比と考えられる。

Fig. 3.28 は負荷速度と生成汚泥の多糖類およびPHB貯蔵容量の関係を示す。それぞれの運転方式ごとに負荷速度の大きい運転ほど多糖類貯蔵容量が大きいことがわかる。Walters らの実験では、F/M比と負荷速度は比例するため、多糖類貯蔵能力に関しては本研究結果と同様の傾向を示すこととなる。しかし、廃水を一度に注入した回分運転では負荷速度が大きいにも関わらず、Run 3.1 とRun 3.5 では多糖類貯蔵容量が小さくなっている。これは、SVICの場合と同様にこれらの運転条件では飢餓時間が短かったためと考えられる。一方、PHBに関しては、負荷速度の大きい運転ではPHB貯蔵容量が小さくなっている。この結果は、Waltersらの実験結果と相反している。河野ら⁵⁸⁾は、PHBが *Sphaerotilus natans* の増殖に大きく影響していること報告しており、PHBについてはより詳

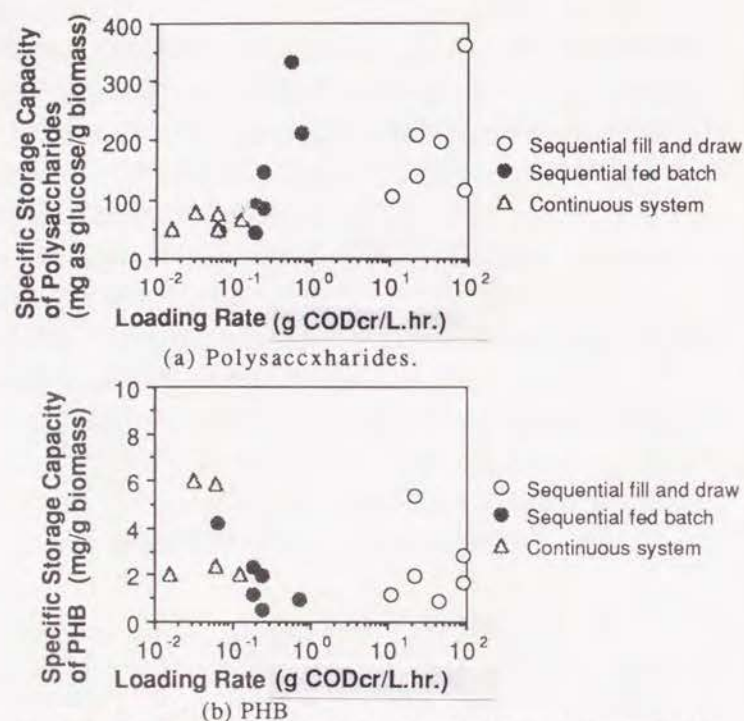


Fig. 3.28 Relationship between loading rate and the specific storage capacities of polysaccharides and PHB of the produced activated sludge.

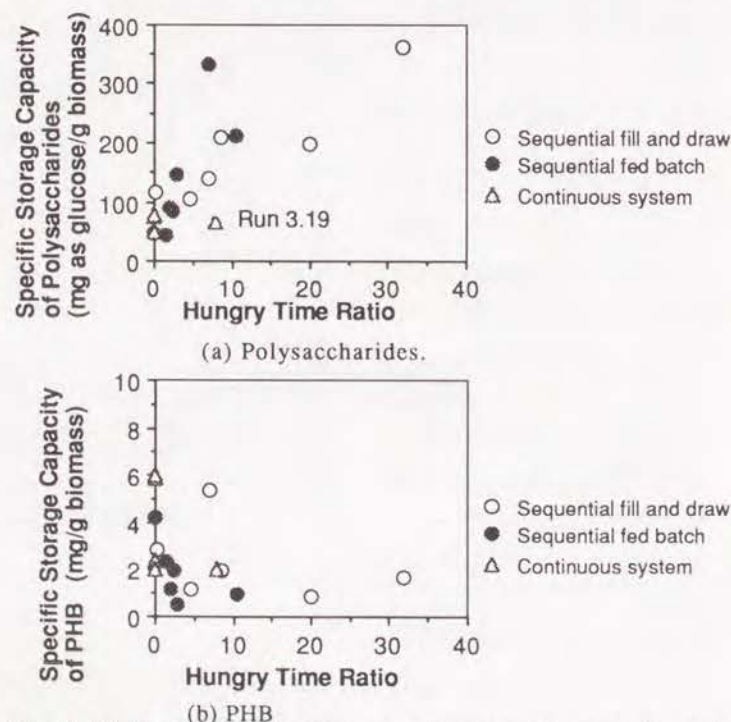


Fig. 3.29 Relationship between hungry time ratio and the specific storage capacities of polysaccharides and PHB of the produced activated sludge.

細な検討が必要であろう。しかし、本研究ではPHBの貯蔵量は多糖類の貯蔵量に比べて一桁以上も小さな値を示しており、基質除去には殆ど影響しないものと考えられる。

Fig. 3.29 は飢餓時間比と貯蔵容量の関係を示している。負荷速度と同様にそれぞれの運転方式ごとにその相関性は強いが、特に、連続型装置で第一槽の容積を曝気槽全容積の1/8に設定したRun 3.19では飢餓時間比が8と十分に大きいにも関わらず多糖類貯蔵容量は小さくなるなど、全体としての相関が悪かった。Fig. 3.30は負荷速度と飢餓時間比の関係を多糖類貯蔵容量およびPHB貯蔵容量をパラメーターとして示したものである。負荷速度が0.5gCODcr/L.hr.以上で飢餓時間比が5以上の領域では多糖類貯蔵容量が100mg glucose/g biomass以上の汚泥が生成されていることがわかる。このことは同領域で糸状性バルキングが抑制されたことと関係が深いと予想される。PHB貯蔵量に関しては明らかな関係は認められなかった。以上のことより、汚泥の貯蔵容量は廃水注入中に貯蔵するための余分の炭水化物がどれだけ存在するかに関わる負荷速度の因子と、その貯蔵容

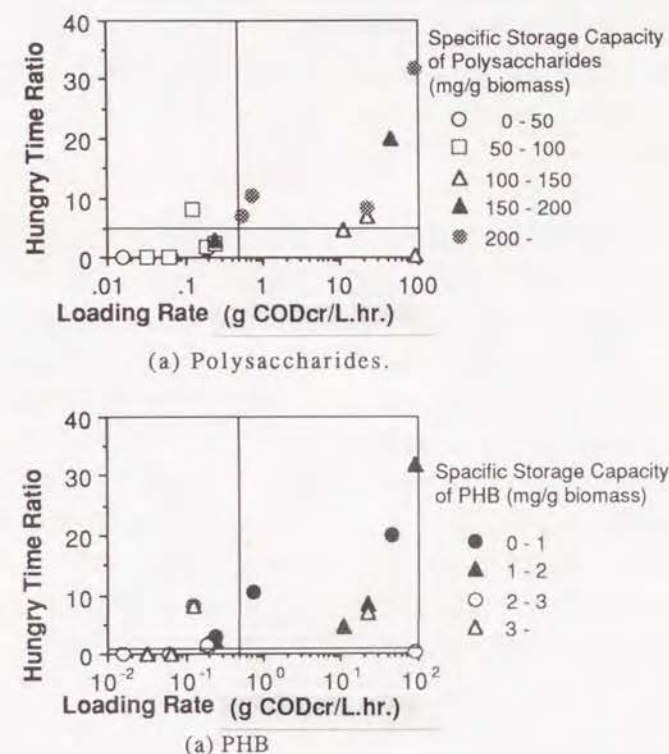


Fig. 3.30 Relationship between loading rate and hungry time ratio with the parameter of the specific storage capacities of polysaccharides and PHB of the produced activated sludge.

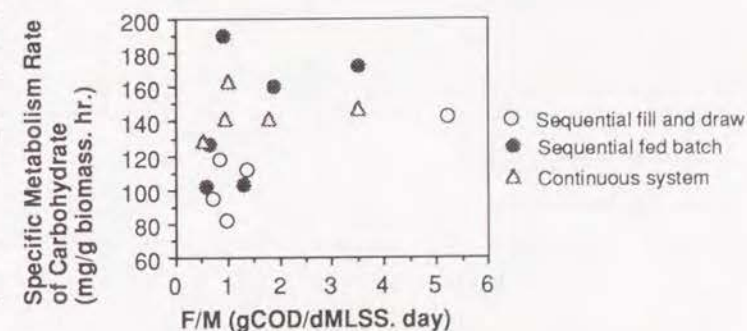


Fig. 3.31 Relationship between F/M ratio and the specific metabolism rate of carbohydrates of the produced activated sludge.

量を回復する時間がどれだけ存在するかに関わる飢餓時間比の因子の両者に支配されると考えられる。

能力試験において、混合液内全炭水化物(液相炭水化物+汚泥内全炭水化物)の変化速度からそれぞれの汚泥の炭水化物代謝速度(K_3)を求めた。Run 3.2 および Run 3.4 では能力試験時の汚泥濃度が高かったため、液相の炭水化物の除去速度が速すぎて炭水化物代謝速度を得ることが出来なかったため、同一条件で運転を行い、能力試験に準じて混合液全炭水化物を直接測定することにより、代謝速度を求めた。Fig. 3.31 はF/M比と炭水化物代謝速度の関係を示したものであるが、貯蔵能力と同様に両者の間には関連性は認められなかった。Fig. 3.32 は負荷速度と炭水化物代謝速度の関係を示したものである。それぞれの運転方式ごとに負荷速度が小さな運転では炭水化物の分解速度が速い汚泥が生成

されている傾向にある。Fig. 3.33 は飢餓時間比と炭水化物代謝速度の関係を示したものであるが、飢餓時間が長い運転で代謝速度が遅い傾向にあった。Fig. 3.34 に負荷速度と飢餓時間比の関係を炭水化物代謝速度をパラメータとして示した。負荷速度が $0.5\text{gCOD}_\text{L}/\text{hr}$ 以上で飢餓時間比が5以上の領域では炭水化物代謝速度が $100\text{mg/g MLSS}\cdot\text{min}$ 以下に

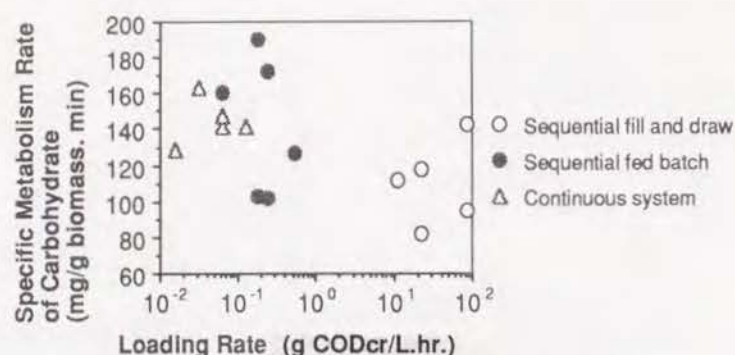


Fig. 3.32 Relationship between loading rate and the specific metabolism rate of carbohydrate of the produced activated sludge.

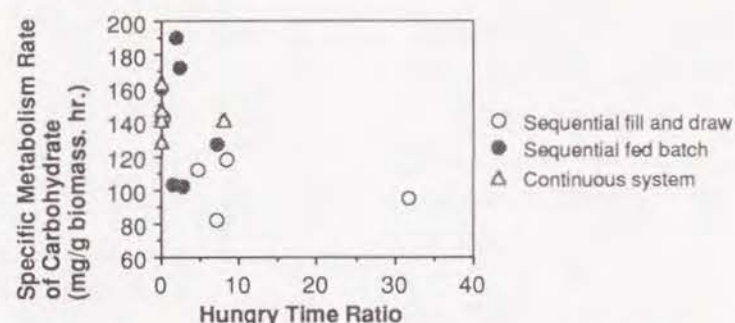


Fig. 3.33 Relationship between hungry time ratio and the specific metabolism rate of carbohydrate of the produced activated sludge.

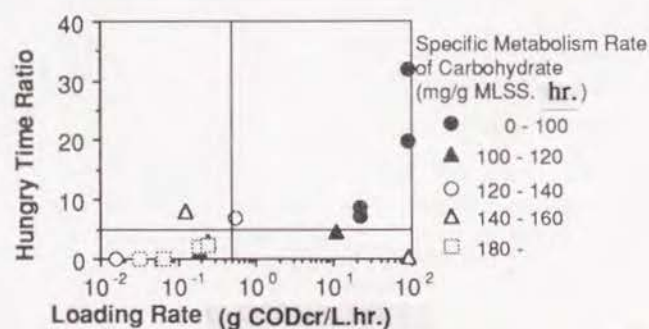


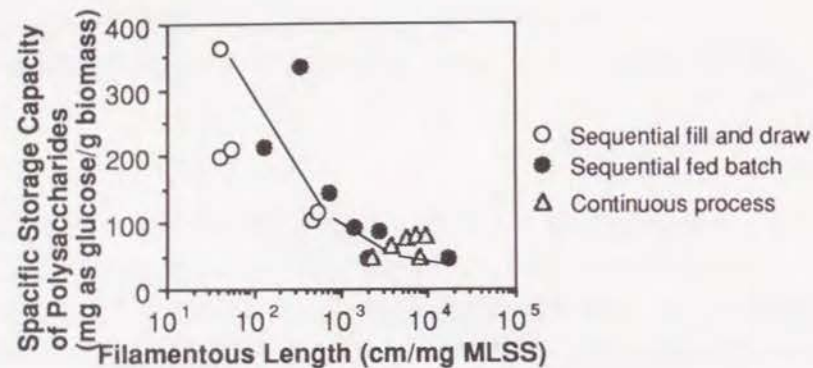
Fig. 3.34 Relationship between loading rate and hungry time ratio with the parameter of the specific metabolism rate of carbohydrate of the produced activated sludge.

なることがわかる。これは、Fig. 3.26に示した多糖類貯蔵量が大きい領域と一致していた。以上のことより、負荷速度が $0.5\text{gCOD}_\text{L}/\text{hr}$ 以上で飢餓時間比が5以上の運転を行なうと、多糖類貯蔵能力が大きく炭水化物代謝速度の遅い汚泥が生成されることが示された。

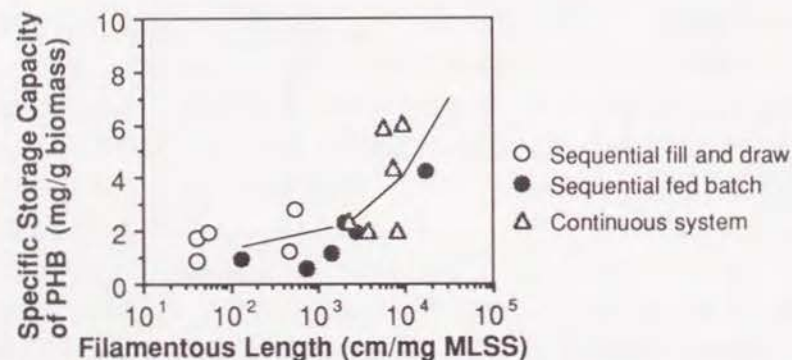
3. 2. 5 多糖類貯蔵容量および炭水化物代謝速度と糸状性バルキングの関係

以上で得られた結果をまとめると、負荷速度が $0.5\text{gCOD}_\text{L}/\text{hr}$ 以上で飢餓時間比が5以上の運転を行なうと、多糖類貯蔵容量が 100mg/g MLSS 以上と大きい一方で代謝速度が $100\text{mg/g MLSS}\cdot\text{min}$ 以下と遅く、SVICが 200mL/g 以下の沈降性の良好な汚泥が生成されるが、負荷速度と飢餓時間比のいずれかがこの値よりも小さい運転では多糖類貯蔵容量が小さく代謝速度の速い汚泥が生成され、汚泥中には*Sphaerotilus natans*が 10^3cm/mg MLSS 以上と多量に増殖することが分かった。Fig. 3.35 は、生成汚泥の能力試験日の糸状体長と汚泥の多糖類およびPHB貯蔵容量の関係を示したものである。バルキングの原因微生物はすべて*Sphaerotilus natans*であり、その他の糸状性細菌は殆ど認められなかったことから、糸状体長は*Sphaerotilus natans*の現存量を表していると考えられる。図より*Sphaerotilus natans*の多く増殖した汚泥は多糖貯蔵容量は小さく、少量ではあるがPHBを貯蔵することがわかる。このことは、*Sphaerotilus natans*が多糖類を貯蔵する能力がないか、または小さいことを示唆するものである。負荷速度が大きい運転時では、液相に貯蔵可能な炭水化物が十分に存在し、飢餓時間比が大きければ貯蔵した多糖類を酸化してその貯蔵容量を回復することができるため、多糖類貯蔵容量が大きいフロックを形成する細菌群が優勢となると考えられる。*Sphaerotilus natans*はPHBを貯蔵できると考えられるがその量は非常に少なく、微生物セレクションには大きな影響はないであろう。

Fig. 3.36 は生成汚泥の能力試験日の糸状体長と炭水化物代謝速度との関係を示している。*Sphaerotilus natans*が多く増殖した汚泥は炭水化物代謝速度が速い傾向にあった。これは糸状性細菌である*Sphaerotilus natans*がその形態から酸素の摂取に有利であると考えれば説明が付く現象と考えられる。本実験は、DOは十分の条件で行っているが、DOが律速となるような条件ではこの速度にもっと大きな差がつくものと推定される。Jenkinsらの研究グループは*Sphaerotilus natans*やType 1701は、曝気槽のDOが低い場合に増殖し、有機物負荷に対し限界DO値が存在すると報告している³⁹⁾。また、それぞれの細菌を単離し、酸素を制限したケモスタット運転を行うことにより、糸状性細菌はフロック形成細菌と比較して酸素に対する親和性(K_{DO})が高く、最大増殖速度(μ_{max})が小さいことを見出し、酸素のフロック内部への浸透を考慮したモデルを用いて説明している⁴⁰⁾。本研究ではDOは十分な条件で行っているが、フロック内部ではDOが低くなるため、糸状性細菌の方がDOに対して有利となり、代謝速度が速くなったものと考えられる。DOが低い条件下では代謝速度の差はより著しいものとなったかもしれない。以上の事を考え合わせると、*Sphaerotilus natans*は貯蔵能力が小さい分だけフロック形成細菌に対して不利であるが、代謝速度が大きい分だけ有利となり、貯蔵にまわす余裕の炭水化物が存在しないような運転条件下では優勢に増殖できるものと考えられる。このことを次節で速度論的に説明することとした。



(a) Polysaccharides.



(b) PHB

Fig. 3.35 Relationship between total length of filamentous bacteria in the test sludge and the specific storage capacities.

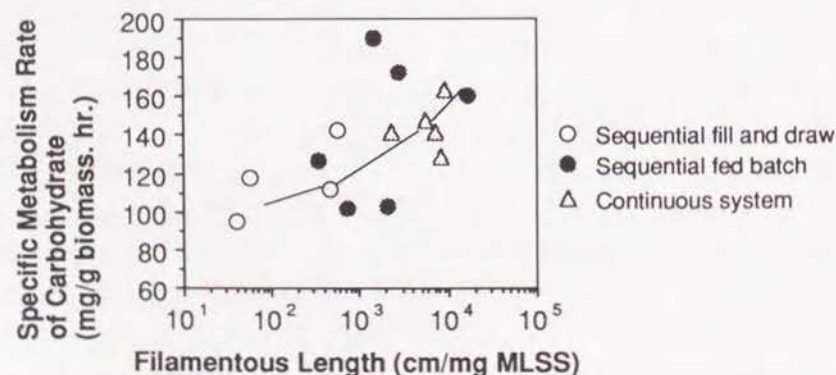


Fig. 3.36 Relationship between total length of filamentous bacteria in the test sludge and the specific metabolism rate of carbohydrates.

第4節 糸状性細菌とフロック形成細菌の競合増殖計算

4.1 活性汚泥の代謝モデル

本研究では活性汚泥微生物の貯蔵を考慮した代謝機構をFig. 3.37 に示すような簡単なモデルで表すこととする。本モデルでは、有機基質は大きく炭水化物と蛋白質に別けて考えている。多糖類は吸着、加水分解を経て細胞内に取り込まれるが、本研究では基質中の炭水化物として単糖類であるグルコースを用いているのでこの過程は考慮していない。炭水化物は細胞内に取り込まれた後、多糖類合成と代謝（呼吸および細胞合成）に利用されるが、貯蔵とはエネルギーを消費する反応であり利用可能な有機基質がなくなった場合にそなえての防衛反応であると考えられる。第3節で示したように、装置内試験の結果、通常運転中の貯蔵量は能力試験で求められた貯蔵能力よりもずっと小さかったことから、活性汚泥微生物は常に代謝分解を優先し、液相に余分の炭水化物が存在する場合にのみその貯蔵を行うと考えられる。そこで、本モデルでは液相に利用可能な炭水化物が存在する間は貯蔵多糖類は分解されることはなく、利用可能な炭水化物が消失した時点で分解が始まると仮定することとする。それぞれの速度は次式で表すことができる。

1. 多糖類貯蔵速度 r_1

活性汚泥中の微生物はそれぞれ固有の飽和貯蔵容量を持っており、貯蔵速度は貯蔵容量の不飽和量に比例するものとした次式のような合田ら⁶¹⁾の提案した式で表すことができる。

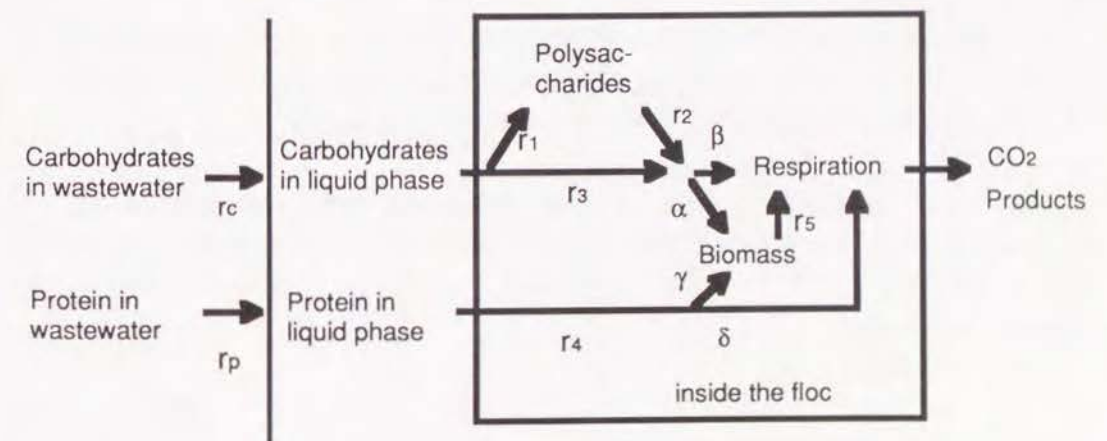


Fig. 3.37 Schematic concept of the kinetic model of the metabolism including of storage process in the activated sludge.

$$r_1 = K_1 \cdot (S_c - S/M) \cdot M \quad (3.4)$$

S: 貯蔵多糖類濃度 (mg/L) S_c : 飽和貯蔵容量 (mg/g微生物)

M: 式(3.3)で計算される微生物濃度 (g/L)

K_1 : 貯蔵速度定数 (/hr)

本モデルでは、貯蔵物質は利用可能な有機物が液相に存在する間は分解されることはないと仮定しているため、 S_c は (3.2.2) で示したように能力試験において貯蔵量の最大値から求めることができる。能力試験においては、基質を一度に投入しているため貯蔵多糖類の変化速度がそのまま貯蔵速度と見做すことができる ($dS/dt = r_1$) ので、 K_1 は能力試験における S および M の時間変化より求めることとした。

2. 多糖類分解速度 r_2

能力試験において貯蔵多糖類の減少は 1 次反動的であった (Fig. 3.21 (c)) ので、本モデルでは、液相に利用可能な炭水化物が消失した後に貯蔵多糖類は次式のように 1 次反応で分解されるものとする。

$$r_2 = K_2 \cdot S/M \cdot M \quad (3.5)$$

K_2 : 分解速度定数 (/hr)

K_1 は能力試験において液相からグルコースが除去された後の多糖類消失速度定数として求めることができる。

3. 炭水化物代謝速度 r_3

能力試験の結果、曝気槽混合液内全炭水化物 (貯蔵多糖類を含む汚泥内全炭水化物 + 液相に残存する炭水化物) の減少が直線的であった (Fig. 3.21 (d)) ため、炭水化物の代謝速度は 0 次反応で表すことができる。

$$r_3 = K_3 \cdot M \quad (3.6)$$

K_3 : 代謝速度定数 (mg/g微生物・hr)

K_3 は (3.2.4) で示したように能力試験において混合液全炭水化物の消失速度から求めた。

4. 蛋白質分解速度 r_4

能力試験における基質中の蛋白質の除去が 1 時反動的であり、アミノ酸の除去が先行していたことから、蛋白質分解は加水分解が律速となると考えられた (Fig. 3.21 (b))。そこで、蛋白質の分解速度は加水分解速度として 1 次反応を仮定した。

$$r_4 = K_4 \cdot P \cdot M \quad (3.7)$$

P: 蛋白質濃度 (mg/L) K_4 : 蛋白質分解速度定数 (/g微生物/L・hr)

K_4 は能力試験において液相の溶解性蛋白質 (ローリー法蛋白質 + 全アミノ酸) 濃度の変化より求めることができる。アミノ酸を測定していない場合にはペプトンのアミノ酸含量より初期値を設定して求めた。

5. 自己分解速度 r_5

$$r_5 = K_5 \cdot M \quad (3.8)$$

K_5 : 自己分解速度定数 (/hr)

K_5 は能力試験において液相から基質が消失した後の微生物量の変化より近似した。得られた K_5 の値は 0.005 ~ 0.03 であり、合田ら⁶⁾の報告した値とほぼ一致していた。

4.2 モデルの検証

能力試験において液相炭水化物 C、蛋白質 P、貯蔵多糖類 S および微生物濃度 M の変化は次式で表すことができる。

1. 液相に利用可能な炭水化物が存在する間

$$dC/dt = -r_1 - r_3 \quad (3.9)$$

$$dP/dt = -r_4 \quad (3.10)$$

$$dS/dt = r_1 \quad (3.11)$$

$$dM/dt = \alpha \cdot a_3 \cdot r_3 + \gamma \cdot a_4 \cdot r_4 - r_5 \quad (3.12)$$

2. 液相から利用可能な炭水化物が消失した後

$$dP/dt = -r_4 \quad (3.13)$$

$$dS/dt = -r_2 \quad (3.14)$$

$$dM/dt = \alpha \cdot a_3 \cdot r_2 + \gamma \cdot a_4 \cdot r_4 - r_5 \quad (3.15)$$

α : 微生物合成に利用される炭水化物の比率

γ : 微生物合成に利用される蛋白質の比率

a_3, a_4 : 転換係数

Table 3.8 The values of determined kinetic coefficients.

Run	K_1	K_2	K_3	K_4	K_5	S_c	$\alpha a_3, \gamma a_4$
Run 3.1	0.89	0.078	112	0.24	0.005	103.0	0.56
Run 3.2	0.62	0.072	118	0.24	-	209.8	0.53
Run 3.3	1.10	0.067	-	0.10	0.011	197.3	0.52
Run 3.4	0.94	0.078	95	0.13	0.007	362.3	0.60
Run 3.5	-	0.041	143	0.24	-	115.6	0.64
Run 3.6	1.16	0.077	82	0.28	0.01	139.6	0.69
Run 3.7	1.81	0.040	127	0.26	0.01	334.0	0.68
Run 3.9	1.33	0.080	172	0.32	0.01	85.0	0.75
Run 3.10	0.91	0.085	103	0.29	0.01	44.7	0.57
Run 3.11	1.88	0.060	-	0.28	0.01	213.0	0.76
Run 3.12	1.89	0.050	102	0.29	0.02	145.0	0.73
Run 3.13	1.43	0.040	190	0.38	0.01	91.0	0.41
Run 3.14	1.24	0.050	160	0.28	0.03	45.0	0.49
Run 3.15	0.75	0.056	141	0.33	-	50.0	0.36
Run 3.16	0.66	0.084	148	0.29	0.005	76.8	0.69
Run 3.17	0.69	0.084	163	0.13	-	79.5	0.48
Run 3.18	0.78	0.076	129	0.12	-	49.8	0.42
Run 3.19	0.73	0.086	142	0.20	0.06	81.8	0.61

-; The data can not obtained from the experiment.

The capacity test did not carry out in Run 3.8.

α 、 γ 、 a_3 、 a_4 は、能力試験における微生物量の最終値から平均的な値として求めた。本実験範囲内ではグルコースとペプトン濃度比を一定に保っているため、平均的な値を用いても差し支えないと思われる。

各能力試験結果より係数を求め、初期値問題として各時間のC、P、S、Mの計算をアダムス法により行った。Table 3.8に求められた係数をまとめて示した。Fig. 4.38～Fig. 3.40は代表例として廃水を一度に投入する回分法のRun 3.2、廃水を連続的に投入する回分法のRun 3.9および連続法のRun 3.18について、能力試験における実験値と計算値を比較したものである。実験値と計算値は良く一致しており、本モデルにより能力試験における活性汚泥微生物の代謝を表すことが可能であると考えられる。その他の実験においても同様な結果を得ることができた。

4. 3 代謝モデルの運転条件への適用

次に本モデルを実験装置で行っている運転条件に拡張することを試みた。廃水を一度に投入する回分法では、C、P、SおよびMの変化は能力試験と同様に式3.9～式3.15を用いて計算することができる。廃水を連続的に投入する回分法では、基本的には基質注入速度 r_c および r_p が加わってくる。第3節で示したように、装置内試験の結果、通常運転中の貯蔵量は能力試験で求められた貯蔵能力よりもずっと小さかったことより、活性汚泥微生物は常に代謝分解を優先し、液相に余分の炭水化物が存在する場合にのみ、その貯蔵を行うと考えられる。廃水の注入速度が代謝と貯蔵の速度に比べて十分大きい場合には、活性汚泥微生物はその能力いっぱいまで、代謝分解も貯蔵もできると考えられるが、廃水注入速度が遅い場合にはそれらが制限されてくる。計算を単純化するために、注入時間中の変化については廃水注入速度と代謝速度を比較し、以下のような計算を行った。

1. 注入速度が十分に大きい ($r_c > r_1 + r_3$) 場合、代謝分解および貯蔵を能力一杯に行う。

$$dC/dt = r_c - r_1 - r_3 \quad (3.16)$$

$$dP/dt = r_p - r_4 \quad (3.17)$$

$$dS/dt = r_1 \quad (3.18)$$

$$dM/dt = \alpha \cdot a_3 \cdot r_3 + \gamma \cdot a_4 \cdot r_4 - r_5 \quad (3.19)$$

2. 注入速度が代謝速度より大きい ($r_3 < r_c < r_1 + r_3$) 場合、代謝を優先し、余分の炭水化物のみを貯蔵に用いる。

$$dC/dt = 0 \quad (3.20)$$

$$dP/dt = r_p - r_4 \quad (3.21)$$

$$dS/dt = r_c - r_3 \quad (3.22)$$

$$dM/dt = \alpha \cdot a_3 \cdot r_3 + \gamma \cdot a_4 \cdot r_4 - r_5 \quad (3.23)$$

3. 注入速度が代謝速度よりも小さい ($r_c < r_3$) 場合には、注入された炭水化物を全て代謝分解に使い、貯蔵は行わない。

$$dC/dt = 0 \quad (3.24)$$

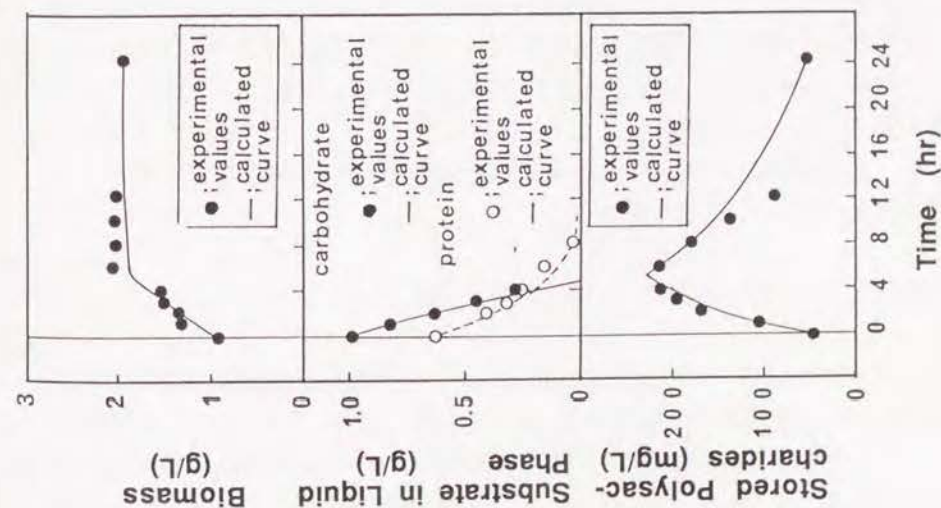


Fig. 3.38 The experimental results and calculated curves of the capacity test with the activated sludge of Run 3.2.

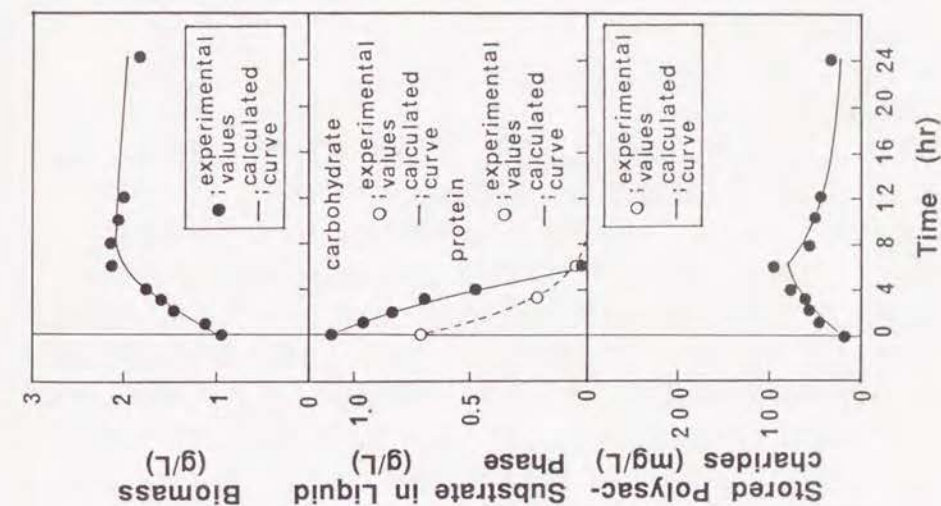


Fig. 3.39 The experimental results and calculated curves of the capacity test with the activated sludge of Run 3.8.

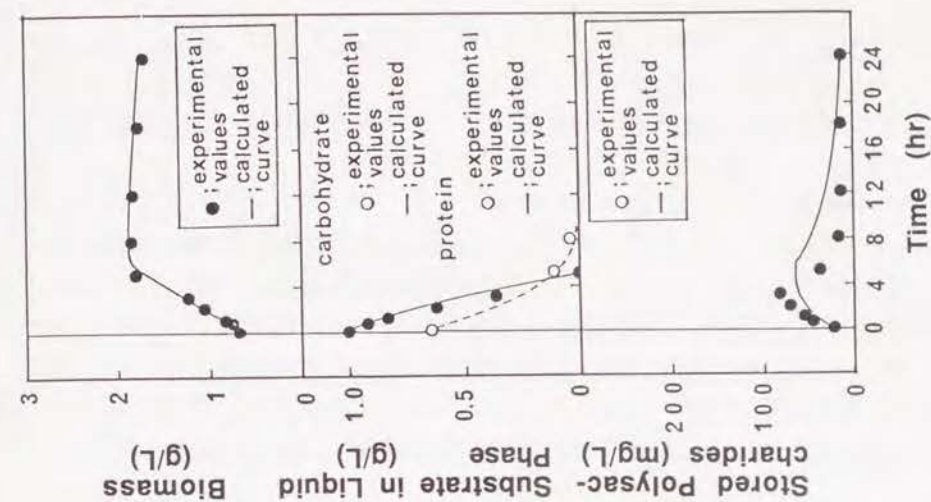


Fig. 3.40 The experimental results and calculated curves of the capacity test with the activated sludge of Run 3.18.

$$dP/dt = r_p - r_4 \quad (3.25)$$

$$dS/dt = -r_2 \quad (3.26)$$

$$dM/dt = \alpha \cdot a_3 \cdot r_c + \gamma \cdot a_4 \cdot r_4 - r_5 \quad (3.27)$$

曝気時には、廃水注入時間の最終値を初期値として、廃水を瞬時に与えた場合と同様に式3.9～式3.15を用いて計算することができる。

能力試験で求められた係数はその汚泥の固有の能力を表していると考えられるので、その値を用いて、それぞれの運転条件での1サイクルの細胞内外の炭水化物および蛋白質量の時間変化の計算を行った。Fig. 3.41、Fig. 3.42 は代表例としてRun 3.7 およびRun 3.9 の装置内実験の結果と計算値を比較したものである。両者は比較的良く一致しており、本モデルにより活性汚泥微生物の貯蔵、代謝を表すことができると考えられた。連続装置では装置の水理学的滞留時間（HRT）を用いて、回分式と同様の計算を行うことができる。完全混合型の場合には、曝気槽の水理学的滞留時間（HRTs）は次のようになる。

$$HRTs = V/Q(1+R) \quad (3.28)$$

V：曝気槽容積（L）

Q：廃水流入流量（mL/min）

R：汚泥返送率

曝気槽流出混合液の液相の炭水化物と蛋白質濃度、汚泥内貯蔵多糖類および微生物濃度は式3.16～3.27を用いて注入時間がHRTsとして計算した場合の最終値（ $t = HRTs$ ）のC、P、SおよびMとして求めることができる。曝気槽の前にセレクターを負荷した方式や槽を分割した方式においても第一槽目の滞留時間HRTs₁の間に廃水が注入されると考えて、同様に計算することができる。後続の曝気槽の流出水については、第一槽目の流出水の値を初期値として曝気時間における式3.9～3.15を用い、各槽の滞留時間経過後の値として求める。完全混合型の装置BおよびCを用いて連続法で運転を行ったRun 3.14～Run 3.17ではいずれの場合も負荷速度が小さく、本モデルでは曝気増流出水中には炭水化物も蛋白質も殆ど残存しないことになる。曝気槽流出水中には炭水化物はほとんど検出されず、蛋白質も微量であったことから、本モデルと一致していた。連続方式で8槽に仕切った曝気槽を持つ装置Dによって運転を行ったRun 3.19の運転条件における曝気槽一槽目流出水の炭水化物と蛋白質の濃度の計算値は0および37 mg/Lであり、Run 3.19の曝気槽第1槽目に炭水化物は検出されず蛋白質は30mg/L程度検出されており、計算結果は実際の値をはほぼ再現していると考えられる。

以上の結果より、能力試験で得られた係数はそれぞれの汚泥の特異的な値であり、それぞれの汚泥の特性を示すものと考えられる。

4. 4 糸状性細菌とフロック形成細菌の競合増殖シミュレーション

Table 3.8 より、各係数の値を比較すると、運転条件によって多糖類貯蔵容量 S_c と炭水化物代謝速度 K_3 が異なる汚泥が生成されるが、 K_1 、 K_2 、 K_4 、 K_5 については大きな差は認められないことがわかる。 S_c や K_3 が大きいと微生物増殖量も多くなることは容易に理解することができる。 S_c や K_3 の違いによって微生物のセレクションが起こると

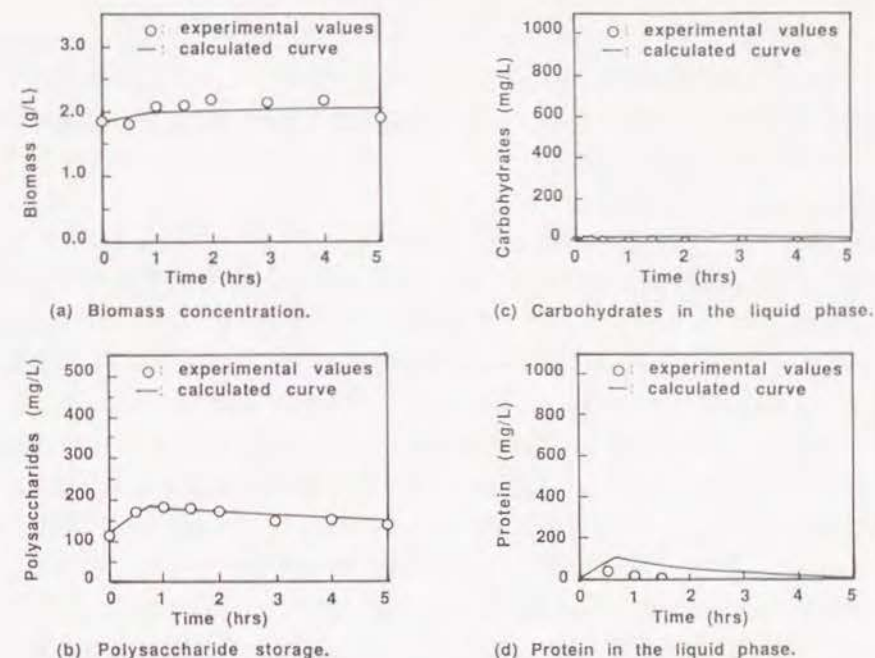


Fig. 3.41 The experimental results and calculated curves of the unit test in Run 3.7.

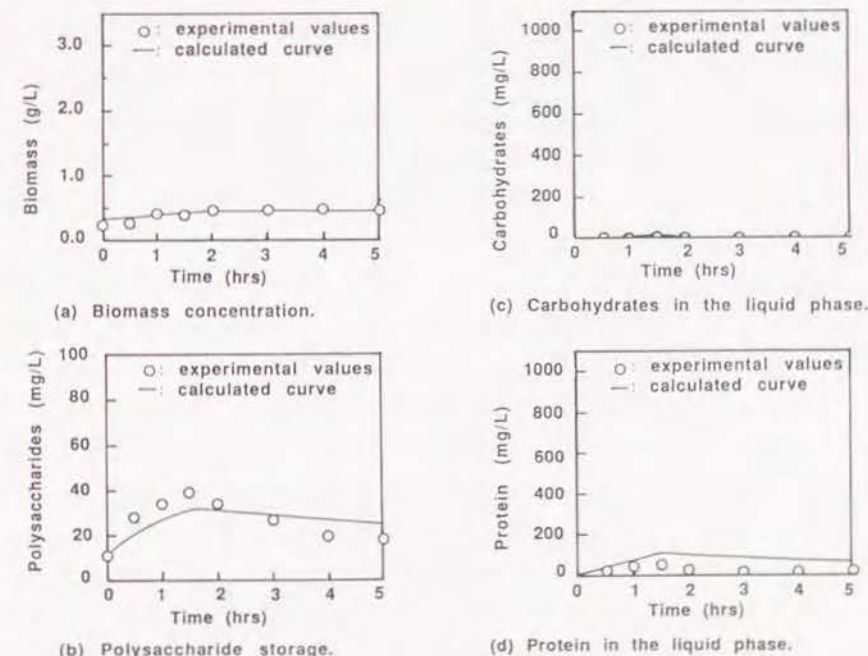


Fig. 3.42 The experimental results and calculated curves of the unit test in Run 3.9.

考えられる。

前述したように S_c と K_3 でバルキング汚泥と非バルキング汚泥の間に大きな差が認められた。すなわち、糸状性細菌はフロック形成細菌と比較して多糖類貯蔵能力が小さいが代謝能力が大きいと見做すことができる。そこで、それらの能力差による糸状性細菌とフロック形成細菌との競合増殖としてバルキングの発生をとらえた計算を行うこととした。計算条件は次のように設定した。

- 1) 貯蔵能力が大きく代謝速度の遅い微生物群: M_1 (フロック形成細菌) と貯蔵能力が小さく代謝速度の速い微生物群: M_2 (糸状性細菌) の2種類のみが存在すると仮定する。
- 2) M_1 と M_2 の貯蔵能力と代謝速度をTable 3.9のように推定した。1日1回廃水を一度に投入する回分法で運転を行ったRun 3.4は、本実験の中で最も大きい S_c と最も小さい K_3 値を示した。汚泥中の糸状性細菌は、糸状体長から換算すると重量比で0.1%以下であり殆どがフロック形成細菌とみなしてもよいと考えられるため、 M_1 の多糖類貯蔵容量および代謝速度係数はRun 3.4の値 ($S_c = 362$, $K_3 = 95.0$) を用いた。しかし、バルキング汚泥中にはフロック形成細菌も存在する。最も糸状性細菌の現存量の多かったRun 3.14の結果 ($S_c = 45$, $K_3 = 160$) から以下のように M_2 (糸状性細菌) の S_c および K_3 値を推定した。 M_2 は多糖類貯蔵能力は全くないと仮定すると、 M_1 の存在比は $362/45 = 0.12$ となる。Run 3.14で得られた値は存在比0.12の M_1 と0.88の M_2 による平均値と考えて、 M_2 の K_3 値を換算すると172となる。

Table 3.9 The estimated values of specific storage capacity of polysaccharides and specific metabolism rate of carbohydrates of microorganisms M_1 and M_2 .

Microorganisms	Specific storage capacity of polysaccharides (S_c) (mg/g biomass)	Specific metabolism rate of carbohydrates (K_3) (mg/gbiomass,hr)
M_1 (Floc forming bacteria)	362	95
M_2 (filamentous bacteria)	0	172

- 3) 種汚泥として用いた実処理場の活性汚泥の糸状体長はほぼ400cm/mgMLSSであり、本実験において出現した *Sphaerotilus natans* の径は $0.8 \sim 0.9 \mu m$ (平均 $0.85 \mu m$ を用いた) であった。フロックを等投影面積として換算して求めた汚泥のバルクの体積 $1 cm^3$ 当たりの乾燥重量は0.2程度であったため、糸状性細菌の $1 cm^3$ 当たりの乾燥重量を0.2程度と仮定すると、糸状性細菌の重量比は次式によって計算できる。

$$FL \times (W/2)^2 \times 0.2 = 0.0005$$

以上より、初期投入汚泥中の M_1 の存在比は0.05%と設定した。

- 4) 1日1回の汚泥の引き抜きを考慮した。
- 5) 沈殿時間中には変化は起こらないものと仮定した。
- 6) M_1 、 M_2 の濃度から2)と同様に糸状性細菌の平均径を W (本実験では $0.85 \mu m$)、 $1 cm^3$ の糸状性細菌の乾燥重量を0.2として次式のように糸状体長 FL を換算した。

$$FL = \frac{M_1}{M_1 + M_2} \cdot \frac{0.2}{(W/2 \times 10^{-4})^2 \times \pi}$$

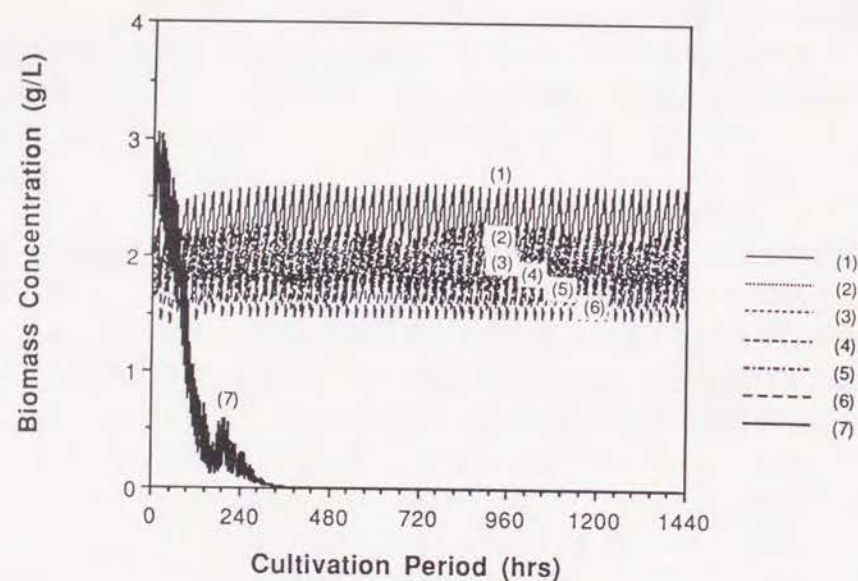
糸状体長とSVICの関係は第2章Fig. 2.9のようになるが、これを実数軸とすると糸状体長3,000 cm/mg MLSS程度までは直線近似することができる。糸状体長がそれ以上になると糸状体長が短いにもかかわらず沈降性が極端に悪くなっている。このような場合には汚泥は一見糸状性細菌が殆どのように見え、糸状性細菌が束になって絡まっている場合が多く、糸状体長を小さめに計測している可能性があるため、糸状体長3,000cm/mgMLSSまでを直線近似した値を用いて算出した次式を用いて、沈降性の変化を求めた。

$$SVIC = 88 + 0.08 \times FL$$

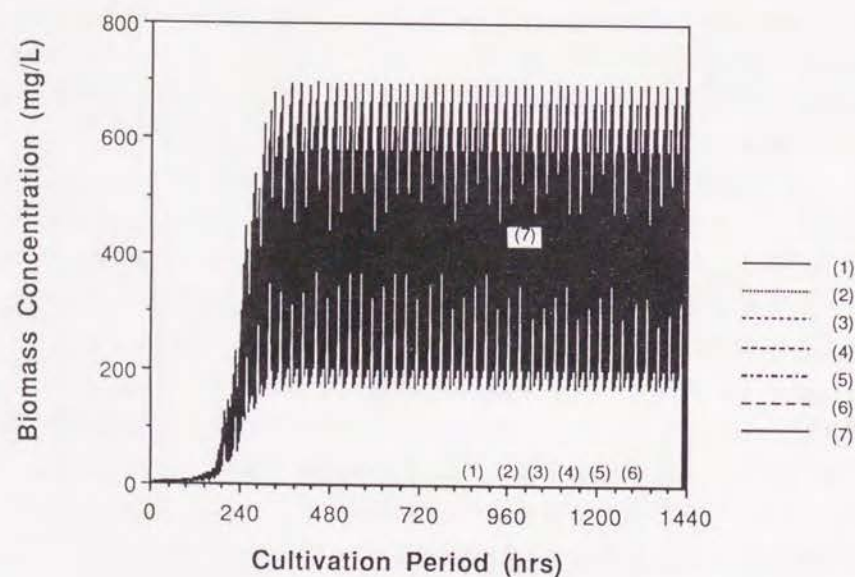
- 7) 実験装置内での沈降性はSVICの値と同様と仮定して、沈降性の変化に伴う装置からの汚泥の流出を以下のように考慮した。即ち、回分装置Aでは、実験装置全容量が20Lで上澄みが14L排出されるので $SV_{30} < 30$ では汚泥の流出は起こらないが、 $100 > SV_{30} > 30$ では流出後の汚泥量は流出前の $30/SV_{30}$ となる。連続装置では $SV_{30} < 100$ で流入流量の汚泥の流出が起こると仮定した。又、計算上 SV_{30} が100%以上では汚泥量は6/20となる。

以上の条件により、廃水を瞬時に添加する回分式の運転方法でサイクルを変化させて計算を行った結果をFig. 3.43に示す。SVICについては実験値もプロットした。(2)3時間サイクル、(3)6時間サイクル、(5)12時間サイクル、(6)24時間サイクル、(7)負荷を4倍にした6時間サイクルがそれぞれRun 3.1、Run 3.2、Run 3.3、Run 3.4およびRun 3.5に対応する。(2)~(6)ではどの条件でも糸状性細菌の増殖は認められず、沈降性は安定する計算結果となった。サイクルを2時間に減少させた(1)では沈降性の悪化には至っていないが、糸状性細菌の現存量はやや多くなっていた。Run 3.1の場合、糸状菌の発生により沈降性が悪化した結果汚泥の流出を招き、MLSSが計算よりも低い値となったために、糸状性細菌の増殖が認められたものと考えられる。Run 4.5の条件では、糸状性細菌の増殖により沈降性が悪化して、汚泥の流出を招いており実験結果とはほぼ一致していた。

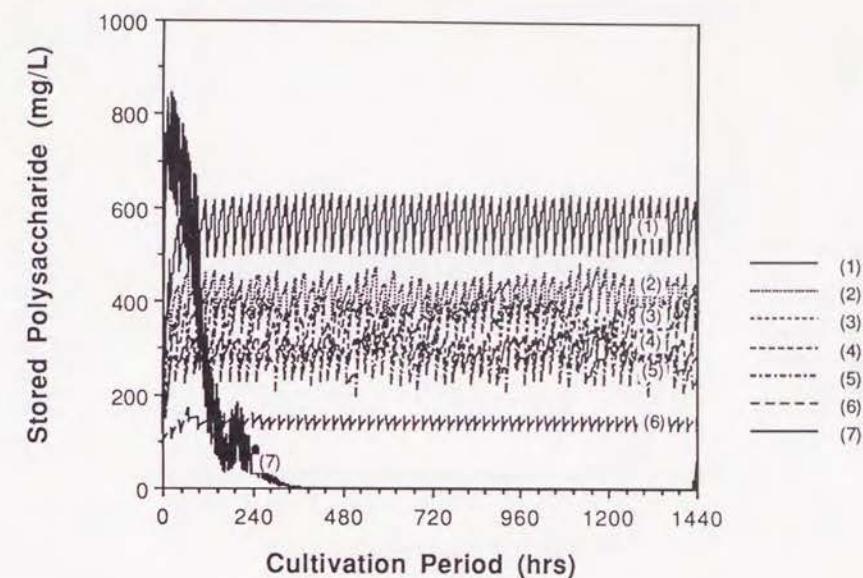
次に廃水を連続的に添加する回分法の計算を行った。1日4回基質注入のサイクルで注入時間を変化させて計算を行った結果をFig. 3.44に示す。基質注入時間が短い(負荷速度が大きい)とフロック形成細菌 M_1 が多糖類を多く貯蔵し優勢に増殖しているが、貯蔵能力の小さな糸状性細菌は増殖できずSVICが減少している。一方、基質注入時間が長い(負荷速度の小さな)運転では貯蔵にまわる余裕の炭水化物が存在しないためフロック形成細菌も多糖類貯蔵を行うことができず、代謝速度の速い糸状性細菌の方が優勢に増殖し始め沈降性が悪化している。(3)40分注入、(5)1時間注入、(6)1.5時間注入、(7)2時間注入がそれぞれRun 3.6、3.7、3.8、3.9に対応する。(3)Run 3.6では糸状性細菌の増殖は認められず、(5)Run 3.7、(6)Run 3.8、(7)Run 3.9で1週間~10日後にSVICが200を越してバ



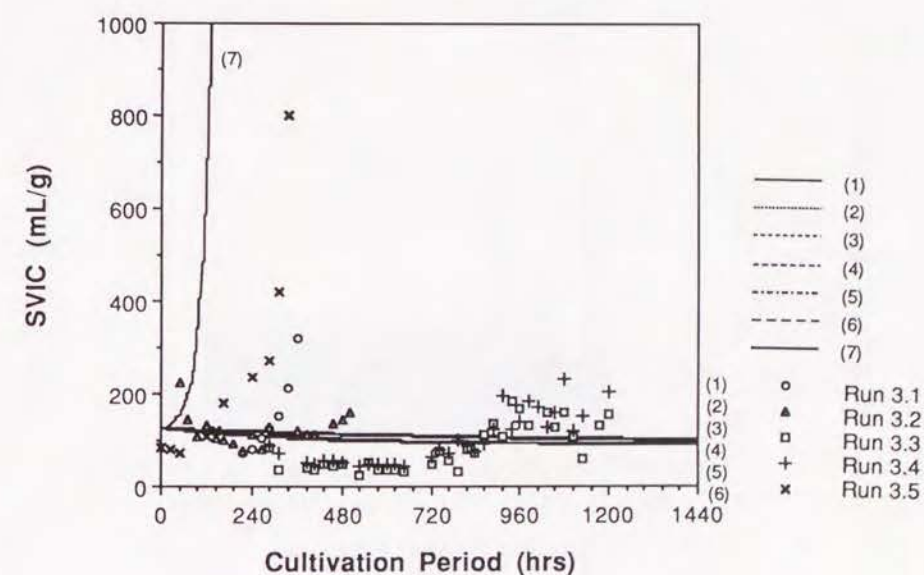
(a) Biomass concentrations of M1.



(b) Biomass Concentrations of M2.



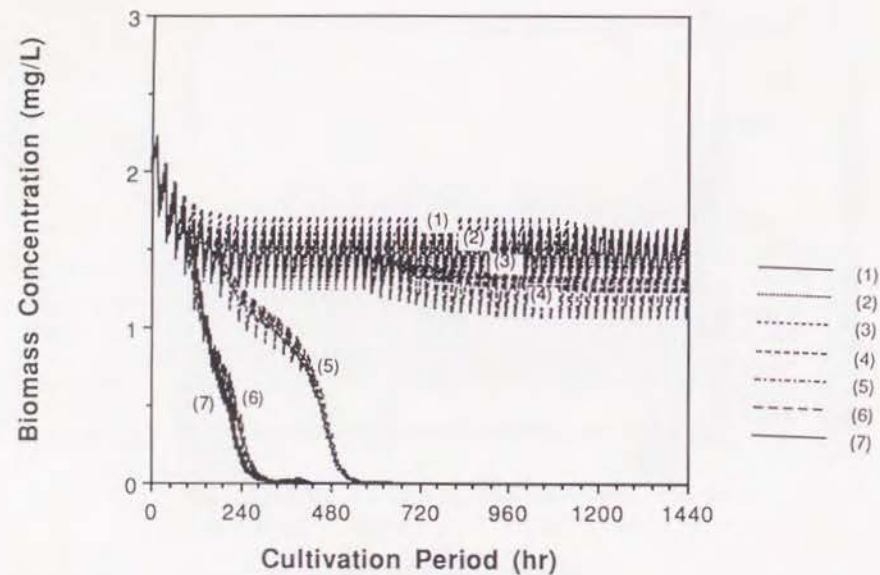
(c) Stored polysaccharides of M1.



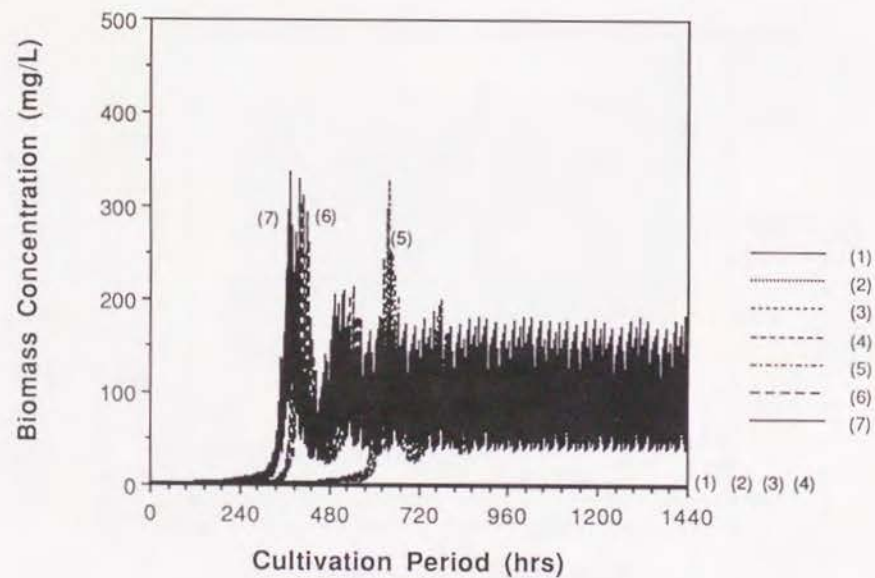
(d) SVIC.

Fig. 3.43-1 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fill and draw system. - Biomass concentrations.
(1) 2hr cycle, (2) 3 hr. cycle (Run 3.1), (3) 6 hr. cycle (Run 3.2), (4) 8 hr. cycle (Run 3.3), (5) 12 hr. cycle, (6) 24 hr. cycle (Run 3.4), (7) 6hr. cycle (Run 3.5) .

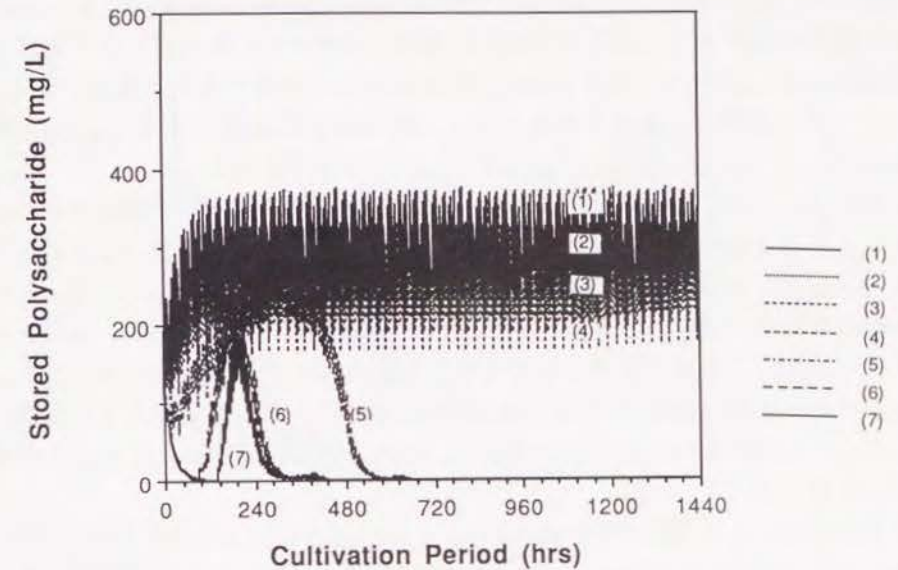
Fig. 3.43-2 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fill and draw system. - Stored polysaccharides and SVIC.
(1) 2hr. cycle, (2) 3 hr. cycle (Run 3.1), (3) 6 hr. cycle (Run 3.2), (4) 8 hr. cycle (Run 3.3), (5) 12 hr. cycle, (6) 24 hr. cycle (Run 3.4) (7) 6 hr. cycle (Run 3.5).



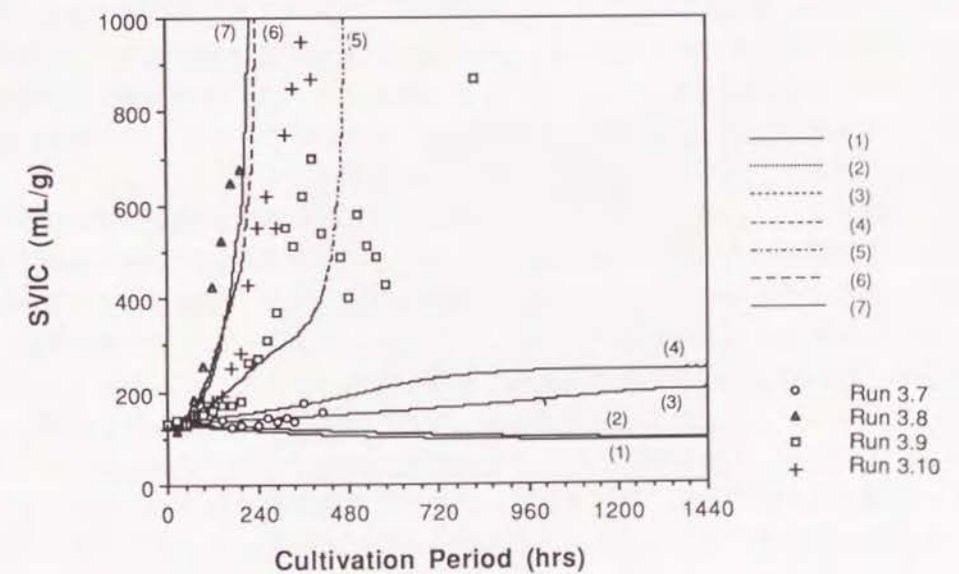
(a) Biomass Concentrations of M1.



(b) Biomass concentrations of M2.



(c) Stored Polusaccharodes of M1.



(d) SVIC.

Fig. 3.44-1 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fed batch system operated in a manner of 4 times-a-day feeding schedule.

- Biomass concentrations.

(1) 30 min., (2) 35 min., (3) 40 min. (Run 3.7), (4) 45 min. , (5) 1 hr. (Run3.8), (6) 1.5 hr. (Run 3.9), (7) 2.0 hr.(Run 3.10).

Fig. 3.44-2 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fed batch system operated in a manner of 4 times-a-day feeding schedule.

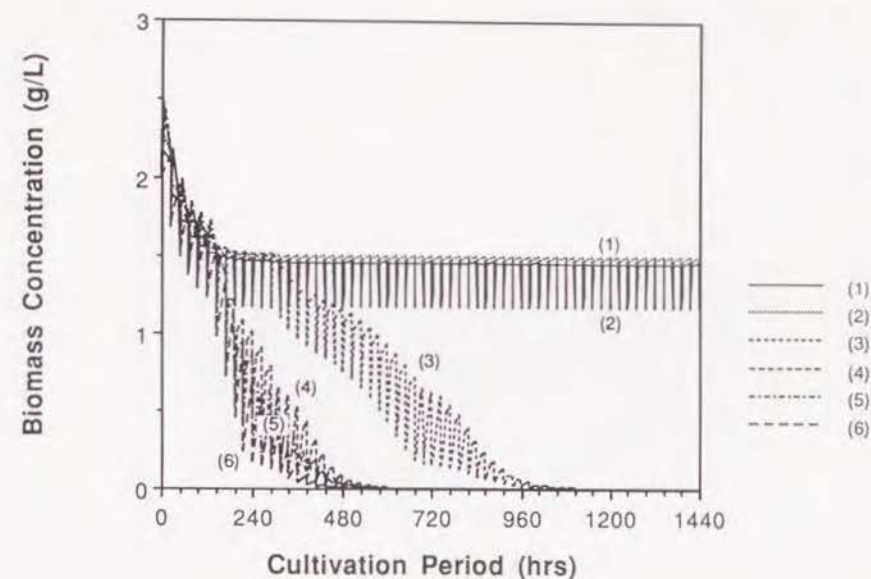
- Stored Polysaccharides and SVIC.

(1) 30 min., (2) 35 min., (3) 40 min. (Run 3.7), (4) 45 min. , (5) 1 hr. (Run3.8), (6) 1.5 hr. (Run 3.9), (7) 2.0 hr.(Run 3.10).

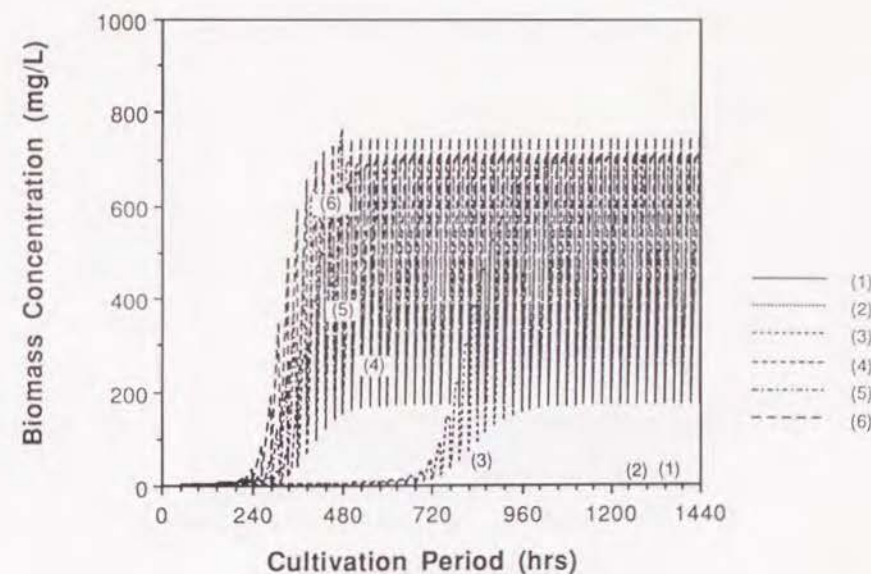
ルキング状態となっており、Run 3.7で実験結果の方がバルキング発生が早かったことを除けば実験結果とよく一致している。Run 3.6の条件の(3)基質注入時間40分まではSVICの計算結果は減少傾向にあり、45分でも僅かに増加した後一定になっていることから、基質注入時間40～45分がバルキングを起こさない限界注入時間であると推定される。Fig. 3.45は1日1回の基質注入条件で計算を行った結果を示したものである。(2)2時間注入、(4)6時間注入、(5)8時間注入、(6)23時間注入がそれぞれRun 3.10、3.11、3.12、3.13に対応している。1日4回の基質注入条件と同様に負荷速度が小さい運転ではバルキングが発生することを良く表している。また、2時間注入ではバルキングは起こらず、4時間以上でバルキング状態にいたっており実験結果と定性的に一致していた。しかし、実験結果のバルキング発生の方が緩やかで、SVICの値も低くなっており、本モデルはバルキング発生速度を大きめに見積るものと考えられる。いずれの計算においても、沈降性悪化後のフロック形成細菌 M_1 の減少によるMLSSの減少が実験結果よりも顕著に現われているが、これは汚泥の流出計算において、沈降後の汚泥濃度の上下分布を考慮していないためと考えられる。

最後に連続装置による運転の計算結果をFig. 3.46に示す。Run 3.15からRun 3.19の運転条件(1)～(5)ではいずれの場合もバルキングが発生する結果となり、実験結果と定性的に一致していた。連続装置においては、返送ラインの詰まりによる沈殿池での嫌気性化や流路の詰まりによる装置からの汚泥の流出等が時々起こり、定常な運転が困難であったため、SVICの変動が激しく、計算結果との定量的な一致は見られないが、初期のバルキング発生時期はよく一致していた。(6)はRun 3.19の第1槽目の容積をさらに半分に設定して計算をおこなったものであり、(7)はRun 3.19の負荷を2倍に設定して計算をおこなったものである。(6)の条件ではバルキングは発生せず、(7)ではバルキングが発生する結果となり廃水の濃度と第1槽目の大きさの組合せが重要であることがわかる。(6)のような運転を行えば、バルキングは抑制されるものと考えられる。

以上の結果より、バルキングの発生を貯蔵能力が大きい代謝速度の遅いフロック形成細菌と貯蔵能力は小さい代謝速度のやや速い糸状性細菌の競合増殖で説明することができた。本モデルでのSVICの計算値は実験値より幾分大きく評価されているが、バルキングが発生するか否かの判断については、実験結果とよく一致していた。実際に炭水化物を多く含む廃水を回分式活性汚泥法で処理する場合、しばしばバルキングに悩まされることとなるが、廃水注入時間を短縮すればこの問題は解決するものと推察される。しかし、実際には注入時間を短くするには大容量の貯留槽とポンプが必要となるため、極端に注入時間を短く設定することは必ずしも実用的ではない。そのため、実験室レベルの実験を基に廃水注入時間によるバルキングの予測計算を行うことは有効と考えられる。



(a) Biomass Concentrations of M1.

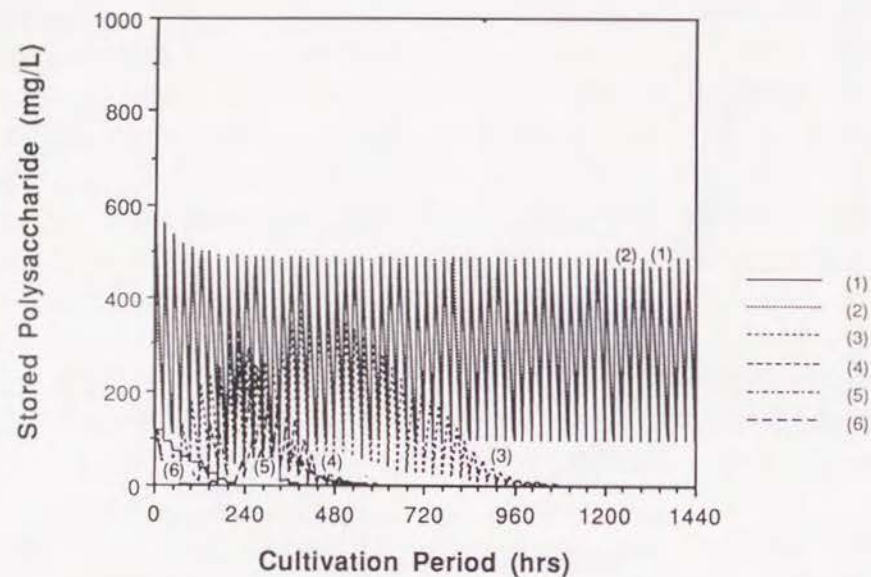


(b) Biomass concentrations of M2.

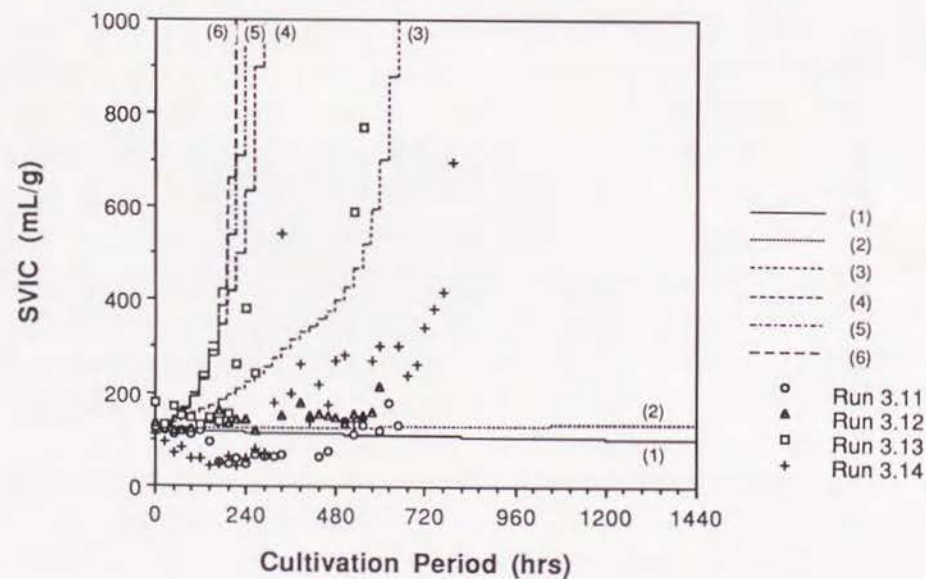
Fig. 3.45-1 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fed batch system operated in a manner of once-a-day feeding schedule.

- Biomass concentrations.

(1) 1 hr., (2) 2 hr. (Run 3.11), (3) 4 hr. (Run 3.12), (4) 6 hr. (Run 3.13), (5) 8 hr., (6) 23 hr. (Run 3.14).



(c) Stored polysaccharides of M1.

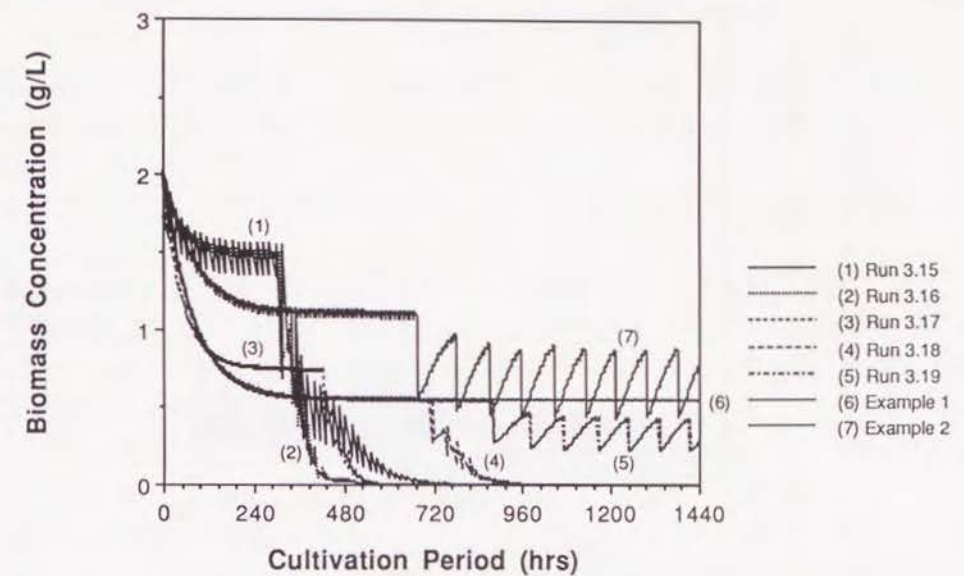


(d) SVIC

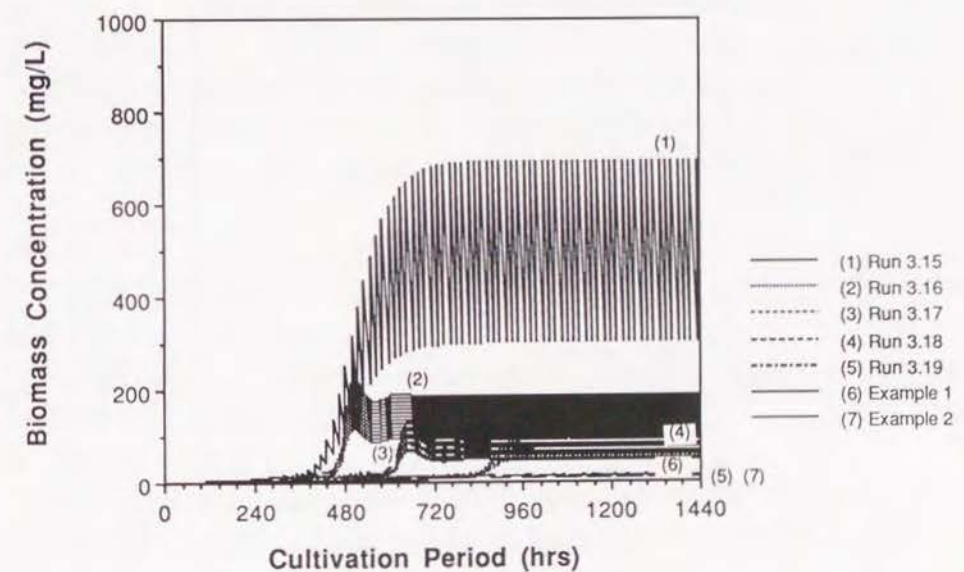
Fig. 3.45-2 The simulated results of bulking occurrence in the sequential fed batch system operated in a manner of once-a-day feeding schedule.

- Stored polysaccharides and SVIC.

(1) 1 hr., (2) 2 hr. (Run 3.11), (3) 4 hr. (Run 3.12), (4) 6 hr. (Run 3.13), (5) 8 hr., (6) 23 hr. (Run 3.14).



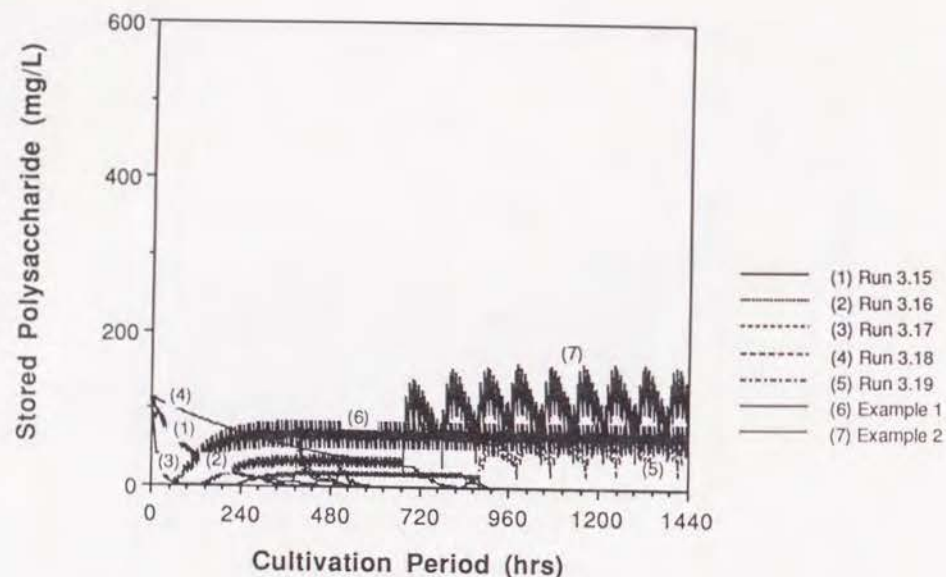
(a) Biomass concentrations of M1.



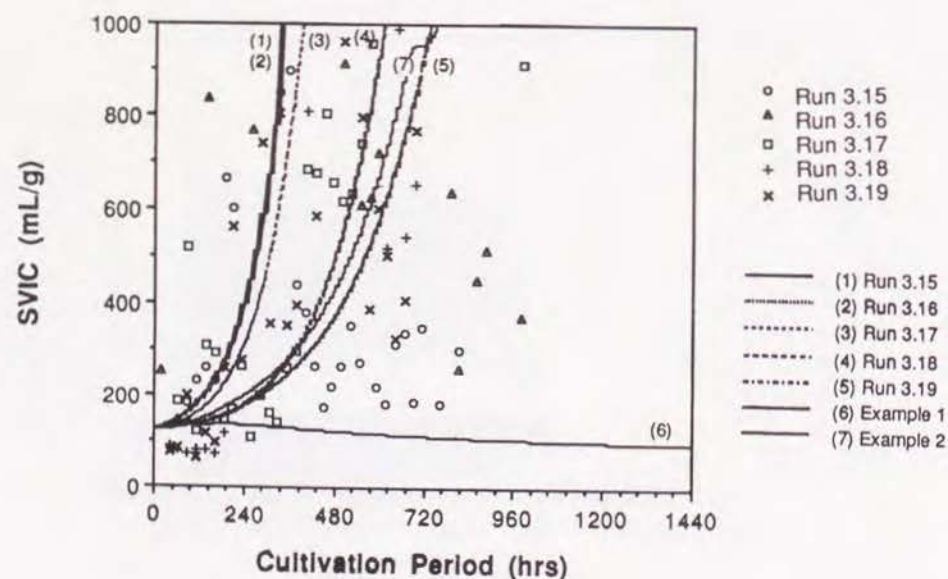
(b) Biomass concentrations of M2.

Fig. 3.46-1 The simulated results of bulking occurrence in the continuous system. - Biomass concentrations.

(1) Run 3.15, (2) Run 3.16, (3) Run 3.17, (4) Run 3.18., (5) Run 3.19, (6) Example 1, (7) Example 2.



(c) Stored polysaccharides of M1.



(d) SVIC.

Fig. 3.46-2 The simulated results of bulking occurrence in the continuous system. - Stored Polysaccharide and SVIC. (1) Run 3.15, (2) Run 3.16, (3) Run 3.17, (4) Run 3.18, (5) Run 3.19, (6) Example 1, (7) Example 2.

第5節 結言

本章では、グルコースを多く含む廃水を処理する場合にしばしば認められる *Sphaerotilus natans* によるバルキングの発生機構について、活性汚泥微生物の貯蔵代謝機構との関連性を検討した。その結果をまとめると以下のようなものである。

1. 貯蔵物質としての細胞内多糖類を抽出する方法の検討を行った結果、次のことが分かった。

- 1) 細胞外物質の抽出除去には水蒸気抽出30分が最も適当であった。
- 2) 水蒸気抽出によって細胞外物質をほぼ除去した汚泥に対し、KOH抽出を行うことにより、細胞外に吸着された炭水化物や細胞外ポリマーの影響を最小限とした細胞内貯蔵多糖類の量を測定することができた。
- 3) 汚泥内全炭水化物を抽出するためには、20mLの曝気槽混合液を遠心分離して得た沈殿汚泥に対し、5 mLの $H_2SO_4(4+1)$ 溶液を添加する方法が妥当であった。
- 4) 混合液全炭水化物を直接抽出するためには、5 mLの混合液に10mLの $H_2SO_4(4+1)$ を添加するのが適当であり、汚泥内全炭水化物と液相炭水化物の測定値の和とはほぼ等しい値を得ることができた。
- 5) 上記の方法で抽出することにより、曝気槽混合液中の炭水化物を液相炭水化物、細胞外炭水化物、細胞内多糖類およびその他の細胞内炭水化物の4分画に区分した。
- 6) グルコース、でんぷんおよびスキムミルクの除去試験をこの方法を用いて行った結果、グルコースを用いた場合には細胞内多糖類が素早く合成されること、でんぷんは細胞外へまず吸着されその他の分画に加水分解産物が蓄積されること、スキムミルク中の乳糖の取り込み経路はグルコースのものとは異なること等、妥当な結果を得ることができた。また、多糖類の貯蔵量には飽和値が存在することが明らかとなった。

2. グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用い、廃水を瞬時に注入する回分式、廃水を連続的に注入する回分方式および連続方式で、種々の条件で活性汚泥の運転を行った結果、次のことがわかった。

- 1) 負荷速度が小さい（本実験条件では $0.5 \text{ mgCOD}_C/\text{gMLSS}\cdot\text{hr}$ 以下）かまたは飢餓時間比が小さい（本実験条件では5以下）運転では、*Sphaerotilus natans*の過剰増殖により沈降性が悪化した。
- 2) 生成した活性汚泥に回分で基質を加えて細胞内外の炭水化物の変化を1.で開発した方法で調べることにより、その多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度を求めることができた。
- 3) 負荷速度が大きく（本実験条件では $0.5 \text{ mgCOD}_C/\text{gMLSS}\cdot\text{hr}$ 以上）、かつ飢餓時間比が大きい（本実験条件では5以上）運転では、多糖類貯蔵能力が大きい（本実験条件では 150 mg/gMLSS 以上）汚泥が生成された。
- 4) 3)の条件の運転では、炭水化物代謝速度がやや遅い（本実験条件では $100 \text{ mg/gMLSS}\cdot\text{hr}$ 以下）汚泥が生成された。
- 5) *Sphaerotilus natans*の多く増殖した活性汚泥は多糖類貯蔵能力が小さく代謝速度が大

きい傾向にあった。

4. 多糖類貯蔵過程を考慮した代謝モデルの構築を行い、モデルの妥当性を検討した結果、本モデルで活性汚泥微生物代謝をほぼ表すことが可能であった。また、本モデルを用いて、貯蔵能力が大きい代謝速度の小さな微生物群であるフロック形成細菌と貯蔵能力が小さい代謝速度のやや速い微生物群である糸状性細菌との競合増殖として *Sphaerotilus natans* を原因とするバルキング発生を予測計算することが可能であった。

参考文献

- 1) Rensink J. H. : New approach to preventing bulking sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 46, pp. 1888-1894, 1974.
- 2) 安田正志：活性汚泥の糸状性バルキングにおける各種要因の影響, 下水道協会誌, Vol. 14, No. 163, pp. 1-9, 1977.
- 3) Chudoba J., Ottova V. and Madera V. : Control of activated sludge filamentous bulking - I, effect of the hydraulic regime or degree of mixing in an aeration tank., *Water Res.* Vol. 7, pp. 1163-1182, 1973.
- 4) Digger G. T., Robbins M. H., Marshall B. R. : The design of a selector to control low F/M filamentous bulking. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 57, No. 3, pp. 220-226, 1985.
- 5) Chambers B. : Effect of logitudinal mixing and anoxic zones on settleability. *Bulking of activated sludge* (Ed. B. Chambers and E. J. Tomlinson), Part 3, pp.166-184, Ellis Horwood Ltd. 1982.
- 6) Lee S. E., Koopman B. L., Jenkins D. and Lewis R. F. : The effect of aeration basin configuration on activated sludge bulking at low organic loading. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 14, pp. 407, 1982.
- 7) J. Chudoba, P. Grau and V. Ottova: Control of activated sludge filamentous bulking - II Selection of microorganisms by means of a selector, *Water Res.*, Vol. 7, pp. 1389-1406, 1973
- 8) Walters C. F., Engelbrecht R. S. and Speece R. E. : Microbial substrate storage in activated sludge. *ASCE, AS2*, pp. 257-269, 1968.
- 9) Takii S. : Accumulation of reserve polysaccharide in activated sludge treating carbohydrate waste. *Water Res.*, Vol. 11, pp/ 79-89, 1977.
- 10) 合田健・宗宮功・津野洋：基質除去ならびに代謝に関する動力学モデル, 土木学会論文報告集, 第213号, pp.17-28, 1973
- 11) 森山克美・栗谷陽一・久米英俊：活性汚泥の基質除去・代謝に関する動力学モデル, 土木学会論文報告集, 第339号, pp. 89-98, 1983.
- 12) 益長茂樹・中西準子・川崎哲久：活性汚泥における糖除去と汚泥中蓄積物, 土木学会論文報告集, 第304号, pp. 81-93, 1980.
- 13) Dohanyos M., Grau P. and Chudoba J. : Kinetic assesment of glucose removal and saccharide accumulation capacities in activated sludge. *The 5th international Water Pollution Research Conference*, July-August, 1970.
- 14) Chech J. S. and chudoba J. : Influence of accumulation capacity of activated sludge microorganisms on kinetics of glucose removal. *Water Res.*, Vol. 17, pp. 659-666.
- 15) Chudoba J., Chech J. S. Farkac J. and Grau P. : Control of activated sludge filamentous bulking - Experimental verification of a kinetic selection theory. *Water Res.* Vol. 19, pp. 191-196, 1985.
- 16) Grau p., Chudoba M. and Dohanyos M. : Theory and practice of accumulation-regeneration approach to control of filamentous bulking. *Bulking of activated sludge* (Ed. B. Chambers and E. J. Tomlinson), Part 3, pp.111-127, Ellis Horwood Ltd. 1982.
- 17) Chudoba J. : Control of activated sludge filamentous bulking - VI Formulation of basic principles. *Water Res.*, Vol. 19, No. 8, pp. 1017-1022, 1985.
- 18) 安田正志, 能登雄二: *Sphaerotilus* sp.を原因とする糸状性バルキングと飢餓時間比の影響, 下水道協会誌, Vol.18, No.202, pp.41-49, 1981
- 19) 河野哲郎, 佐藤伸, 猪俣正一, 吉名功志: 廃水の注入方式が貯蔵物質蓄積能力と基質接種活性に及ぼす影響, 京都大学環境衛生研究会, 第4回シンポジウム講演論文集, pp. 269-274, 1985.
- 20) 朴東根: 嫌気・好気回分式活性汚泥法に関する基礎的研究, 京都大学学位論文, 1988.
- 21) D. Herbert, P.J. Phipps and R. E. Strange : *Methods in microbiology* (ed. J. R. Morris et al.), 5B, pp.226, Academic Press.
- 22) Barnerji S. K., Ewing B. B., Engelbrecht R. S. and Speece R. E. : Mechanism of starch removal in the activated sludge process. *J. Water Pollut. Control Fed.* Vol. 40, pp. 16-29.
- 23) Wilkinson J. F. : The extracellular polysaccharides of bacteria. *Bact. Rev.*, Vol. 22, pp. 46-73, 1958.
- 24) Pavoni J. L., Tenny M. W. and Engelbreger Jr W. F. : Bacterial exocellular polymers and biological flocculation. *J. Water Pollut. Control Fed.*, Vol. 44, pp. 414-431, 1972.
- 25) Harris R. H. and Michel R. : Inhibition of the flocculation of bacteria by biopolymers. *Water Res.* Vol. 9, pp. 993-999, 1981.
- 26) Novak J. T. : Polymer extraction from activated sludge. *J. Water Pollut. Control Fed.*, Vol. 53, pp. 1420-1424, 1981.
- 27) Sato T. and Ose Y. : Floc-forming substances extracted from activated sludge by sodium hydroxide solution. *Water Res.*, Vol. 14, pp. 333-338, 1980.
- 28) Sato T. and Ose Y. : Floc-forming substances extracted from activated sludge by ammonium hydroxide and EDTA solution. *Water Sci. Technol.*, Vol. 17, pp. 517-528, 1984.
- 29) Brown M. J. and Lester J. N. : Comparision of bacterial extracellular polymer extraction methods. *Appl. Envir. Microbiol.*, Vol. 40, pp. 179-185, 1980.
- 30) 松井三郎, 山本良子: 活性汚泥の多糖類貯蔵能力及び *Sphaerotilus natans* の出現に及ぼす接触負荷量の影響, 下水道協会誌, Vol.25, No.286, pp.53-63, 1988

- 31) Ryoko Yamamoto and Saburo Matsui: Influence of contact loading on polysaccharide storage and settleability of activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 21, Brighton, pp. 1639-1642
- 32) 山本(池本)良子・小森友明・松井三郎: 回分式活性汚泥における負荷速度と *Sphaerotilus natans* の増殖の関係, 衛生工学研究論文集, Vol. 26, pp. 19-29, 1990.
- 33) 前掲 21)~27)
- 34) 前掲 27)
- 35) A. C. Ward and E. A. Dawes: A disc assay for poly- β -hydroxybutyrate. *Analytical Biochem.*, Vol. 52, pp. 607-613, 1973
- 36) 前掲 19)
- 37) 福井作蔵: 還元糖の定量法 (生物化学実験法 1), 学会出版センター
- 38) O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr and R. J. Randall: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, Vol. 193, pp. 265-275, 1951
- 39) 松井三郎・市川龍・安吉範行: 迅速水分計を用いた MLSS, 返送汚泥濃度の短時間測定法, 下水道協会誌, Vol. 18, No. 210, pp. 74-75, 1981.
- 40) 前掲 13)
- 41) 前掲 15)
- 42) Roberts R. D. and Kempton A. G.: Use of ^{14}C -glucose to study substrate removal by activated sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 43, pp. 1499-1506, 1971.
- 43) 前掲 9), 20)
- 44) Takkii S.: Bacterial characteristics of activated sludge treating carbohydrate wastes. *Water Res.*, Vol. 11, pp. 85-89, 1977.
- 45) 前掲 20)
- 46) Banerji S. K., Ewing B. B., Engelbrecht R. S. and Speece R. E.: Kinetics of removal of starch in activated sludge system. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 40, pp. 161-173, 1963.
- 47) 安楽泰宏: 大腸菌表層幕系における物質輸送, in 細胞表層 (田村編) 3 章, pp. 42-60, 学会出版センター, 1986.
- 48) 前掲 18)
- 49) 前掲 15)
- 50) Patterson J. W., Brezonik P. L. and Putnam H. D.: Measurement and significance of adenosine triphosphate in activated sludge. *Enviro. Sci. Tech.*, Vol. 4, pp. 567-575, 1970.
- 51) Kao I. C., Chiu S. Y., Fun L. T. and Erickson L. E.: ATP pools in pure and mixed cultures. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 45, pp. 926-931, 1973.
- 52) Chiu S. Y., Kao I. C., Erickson L. E. and Fan L. T.: ATP pools in activated sludge. *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 45, pp. 1746-1758, 1973.
- 53) 宗宮功・川村清史・安福秀章: 活性汚泥による都市下水中有機物質の代謝に関する研究(II) - 都市下水中有機物質の代謝速度の検討 -, 下水道協会誌, Vol. 17, No. 196, 1980.
- 54) 金子光美, 南武敏博: 重金属の活性汚泥に対する毒性効果についての考察(その1) - 各種金属イオンの細菌に対する影響 -, 下水道協会誌, Vol. 10, No. 107, pp. 2-12

- 55) 前掲 8)
- 56) 前掲 10)
- 57) 前掲 12)
- 58) 前掲 19)
- 59) M. Sezgin, D. Jenkins and D. S. Parker: A unified theory of filamentous activated sludge bulking, *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 50, No. 2, pp. 362-381, 1987
- 60) M. Richard, O. Hao and D. Jenkins: Growth kinetics of *Sphaerotilus* species and their significance in activated sludge bulking, *J. Wat. Pollut. Control Fed.*, Vol. 57, No. 1, pp. 68-81, 1985.
- 61) 前掲 10)
- 62) 22) 松井三郎・山本良子: 活性汚泥の沈降性に及ぼす糸状性細菌, 糸状菌の役割, 下水道協会誌, Vol. 20, No. 225, 1983/2.

第4章 糸状性硫黄細菌の増殖に起因するバルキング発生に及ぼす硫酸塩還元の影響

第1節 緒言

わが国の都市下水中には10~100mg/Lの硫酸塩が含まれている。嫌気条件下では硫酸塩は硫酸塩還元菌によって硫化物に還元されることが知られている。硫酸塩還元による下水管の腐食問題は有名であり、近年わが国でも、下水道の老朽化に伴い、各地で陥没事故が発生している。下水処理場の悪臭問題も硫酸塩還元に起因していることが多い。活性汚泥処理においては、処理法が好気性であることから、硫酸塩還元については殆ど無視されてきたが、嫌気部分やフロック内部に硫酸塩還元菌が成育すれば、その構成微生物のポピュレーションに影響をおよぼすと考えられる。特にある種の糸状性細菌は硫化物を酸化してエネルギーを得ることができることが報告されており、硫酸塩還元菌と糸状性硫黄細菌との関係を明らかにすることが重要と考えられる。

近年、窒素やリンの除去を目的として、活性汚泥プロセスに曝気を行わない無酸素(ANOXIC)槽や嫌気(ANAEROBIC)槽を付加した運転が採用されるようになってきている。Shao and Jenkins¹⁾は、好気(AEROBIC)とは、曝気してDOが存在する条件、無酸素(ANOXIC)とはDOが存在せずNO₃が存在する条件、嫌気(ANAEROBIC)とは、DOもNO₃も存在しない条件と定義している。脱窒菌が硝酸塩中の酸素を電子受容体として呼吸に利用すると同様に、硫酸塩還元菌も硫酸塩中の酸素を呼吸に利用する。DOもNO₃も存在せずSO₄が存在する条件をDOもNO₃もSO₄も存在しない絶対嫌気性の条件と区別する必要があるかもしれない。しかし、そのような状態は活性汚泥中ではほとんど考えられないので、本研究ではDOもNO₃も存在せずSO₄が存在する条件を嫌気(ANAEROBIC)に含めることとした。栄養塩の除去を行う活性汚泥法では嫌気(ANAEROBIC)槽において硫酸塩は容易に還元されるであろう。Wannerら²⁾は嫌気(ANAEROBIC)槽を付加した栄養塩除去プロセスにおいてType 021Nや*Sphaerotilus natans*などの糸状性細菌が抑制されることを報告しているが、同時に、*Thiothrix* sp.が増殖することを経験し、硫酸塩還元の影響を指摘している。

一方、最初沈殿池を取り除いたり縮小したりすると糸状性バルキングが抑制されることが知られている³⁾。最初沈殿池においても硫酸塩還元などの嫌気性の分解が起こることが考えられる。嫌気性分解により、曝気槽の流入水の水質が変化すると活性汚泥の微生物相に影響が出るであろう。

本章では、最初沈殿池も含めた活性汚泥プロセスにおける硫酸塩還元について調べるとともに、糸状性硫黄細菌の増殖との関係について検討する。第2節では、都市下水中

の有機物組成と硫酸塩濃度および硫酸塩還元菌数を計測するとともに、最初沈殿池における水質変化について検討を行う⁴⁾。第3節ではグルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて嫌気好気活性汚泥法の室内実験装置を運転し、硫酸塩還元がりん除去と糸状性細菌の増殖に与える影響について実験的に検討を行った⁵⁾。第4節ではより都市下水に近い組成の酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて、標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行い、硫酸塩還元と糸状性細菌の増殖の関係を更に検討した⁶⁾。第5節ではそれぞれの活性汚泥中の微生物生態系について考察する。

第2節 都市下水の有機物組成と最初沈殿池における硫酸塩還元を伴う水質変化

2.1 調査方法および実験方法

2.1.1 調査対象施設

調査を行ったのは、2カ所の都市下水処理場SとAおよび、団地下水を処理するコミュニティプラントOである。A処理場は一部合流式の処理場であり、調査した系列ではバルキングの発生はまれであるが、1989年の調査期間中に*Sphaerotilus natans*を原因とするバルキングが一度発生した。S処理場は比較的新しい施設であり、処理区域はすべて分流式を採用している。Type 021Nを原因とするバルキングがしばしば発生し、その対策として1989年から第1系列の最初沈殿池を1/4に縮小して運転を行っている。また、1990年度からは第4系列で嫌気好気法の運転を行っている。調査期間は1988年から1990年10月まで、不定期に行った。1989年度は、最初沈殿池を縮小した第1系列（試験系列、Experimental process）と従来の最初沈殿池を持つ第3系列（対象系列、Normal process）について、初沈越流水の水質と活性汚泥の沈降性に関する調査を行なった。1990年度には、第3系列を休止し嫌気好気法の第4系列の運転を行なったため、第1系列と第4系列について初沈流入水と初沈越流水の水質の比較調査を行った。O処理場については、1985年の8月から9月にかけて流入下水の水質を4回測定したものである。

2.1.2 実験方法

調査方法としては、初沈流入水、初沈越流水、曝気槽混合液および曝気槽付着汚泥を採取し、実験室に持ち帰ってできるだけ早く分析に供した。曝気槽混合液については、沈降性の指標としてMLSS、SVICおよび糸状体長の測定を行った。初沈流入水と初沈越流水についてSS、全COD_{Cr}、全炭水化物、全蛋白質の測定を行い、初沈流入水と初沈越流水および曝気槽混合液の0.45μmのメンブレンフィルターろ液を用いて、溶解性COD_{Cr}、溶解性炭水化物、溶解性蛋白質、有機酸、りん酸塩、硝酸塩、硫酸塩および硫化物の分析を行った。別に汚泥の硫化物含有量と硫酸塩還元菌数の測定を行った。分析方法は、炭水化物はアンスロン法を、蛋白質はローリー法を用いた。硫酸塩、りん酸塩、酢酸塩および乳酸塩については細管式等速電気泳動分析装置またはイオンクロマトグラフを、

その他の有機酸はガスクロマトグラフを用いた。硫化物濃度および汚泥中硫化物含有量は、塩酸により酸性にした試料をガス洗浄瓶によって吸引曝気し、ガス検知管により測定を行った。活性汚泥中と壁面付着汚泥中の硫酸塩還元菌数の測定は、汚泥を超音波破壊器によって分散した後、m-IAN培地を用いたMPN法⁷⁾により行った。

2.2 調査結果と考察

2.2.1 初沈越流水の水質と活性汚泥の沈降性の関係

Table 4.1 にそれぞれの処理場の初沈越流水の水質の調査期間中の平均値を示す。COD_{Cr}濃度については、分流式のS処理場が最も高く、続いて団地廃水を処理するO処理場であり、一部合流式のA処理場がもっとも低かった。COD_{Cr}濃度の差は収集区域の特性にもよるが、A処理場の低いCOD_{Cr}は雨水による希釈が影響しているものと考えられる。Fig. 4.1は初沈越流水の有機物組成を炭素換算で図示したものである。炭水化物中の炭素

Table 4.1 Mean concentrations of analyzed substances in settled sewage of each wastewater treatment plant.

Analyzed Substances (mg/L)	S Plant		A Plant	O Plant
	Normal Process	Experimental Process		
SS	83.8	170	43.2	-
T-BOD	382	229	42	(81)
S-BOD	270	106	33	(44)
T-COD _{Cr}	276	318	76	-
S-COD _{Cr}	164	129	46	100
T-Protein	75	87	31	71
S-Protein	41	40	12	33
T-Carbohydrate	7.3	9.6	2.9	3.9
S-Carbohydrate	4.7	5.7	2.2	1.3
iso-Valerate	1.71	0	0	0
n-Butyrate	3.49	0.94	0	2.80
iso-Butyrate	1.30	0.20	0	3.85
Lactate	1.03	0.52	0	0
Propionate	8.71	1.53	0	0.47
Acetate	13.1	3.39	0	2.22
SO ₄	21.9	24.0	18.2	16.3
PO ₄ -P	3.30	2.78	0.60	-
NO ₃ -N	0.35	0.26	0.33	-

(); TOC

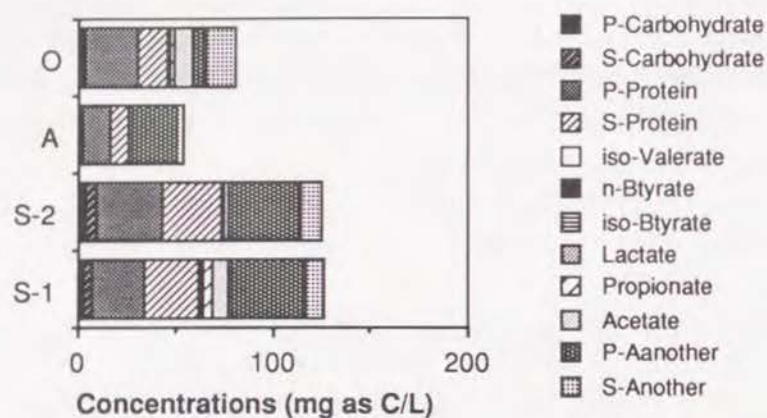


Fig. 4.1 Organic components of settled sewage. O: a domestic wastewater treatment plant; A: a municipal wastewater treatment plant; S-2: the experimental process of municipal wastewater treatment plant; S-1: the normal process of S plant.

含有量は標準液として用いたグルコースの炭素含有量から、蛋白質中の炭素含有量は標準液として用いた牛血漿アルブミン中の炭素含有量から推定した。有機酸についてはその炭素含有率から計算した。その他の有機物については COD_{Cr} から推定した。A処理場の初沈越流水中の有機物は主に蛋白質であり有機酸は殆ど含まれていなかった。S処理場でも、蛋白質が主成分であったが、酢酸やプロピオン酸などの有機酸も含まれており、その濃度は初沈の大きい対象系列の方が初沈を縮小した試験系列と比較して高い傾向にあった。O処理場でも、蛋白質が主成分であったが、有機酸も含まれていた。本処理場では最初沈殿池はなく、流入廃水は破砕機によって分散された後、貯留槽に蓄えられる。調査期間が夏期であったため、貯留槽内で嫌気性分解が起こったものと考えられる。

A処理場とS処理場の硫酸塩濃度はともに20mg/L程度であり、全国的な比較からみると低い傾向にあった。O処理場の硫酸塩濃度は16.3mg/LでありA処理場やS処理場と比較して低かったが、O処理場の調査期間がA処理場とS処理場の5年前であり、両者を単純に比較することはできないであろう。雨水中と水道水中の硫酸塩濃度を測定した結果、雨水で約8mg/L、水道水で約12mg/Lであった。金沢市の水道水の硫酸塩濃度が低いことが下水中の硫酸塩濃度の低さの原因と考えられる。海水や温泉水が混入する地域では、下水中の硫酸塩濃度は高くなることが知られている。

Fig. 4.2は全処理場における初沈越流水のSS濃度と曝気槽汚泥の沈降性の関係を示したのものであるが、SS濃度が直接沈降性と関係していないことがわかる。Fig. 4.3およびFig. 4.4は初沈越流水中の溶解性 COD_{Cr} および溶解性蛋白質濃度と汚泥の沈降性の関係を示している。溶解性有機物濃度とその大部分を占める溶解性蛋白質が多い場合に沈降性が悪化する傾向がやや認められる。Fig. 4.5、Fig. 4.6、Fig. 4.7は初沈越流水中に多く検出された有機酸の酢酸、プロピオン酸および乳酸濃度と沈降性の関係を示したものである。こ

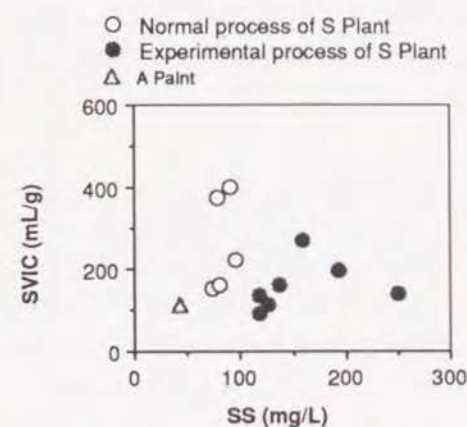


Fig. 4.2 Relationship between SS in settled sewage and SVIC.

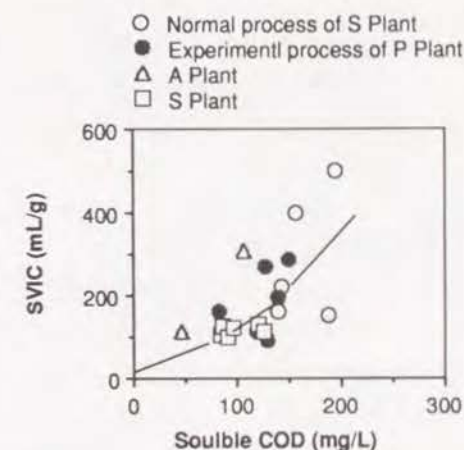


Fig. 4.3 Relationship between soluble COD_{Cr} in settled sewage and SVIC.

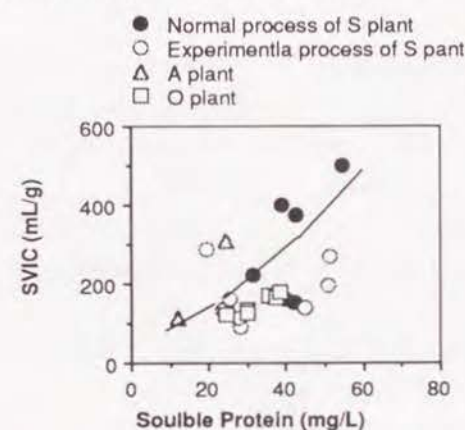


Fig. 4.4 Relationship between soluble protein in settled sewage and SVIC.

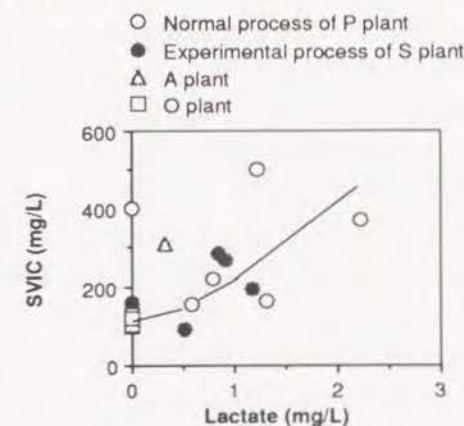


Fig. 4.5 Relationship between lactate concentration in settled sewage and SVIC.

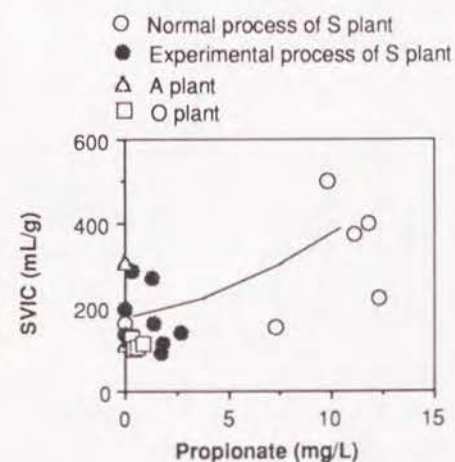


Fig. 4.6 Relationship between propionate concentration in settled sewage and SVIC.

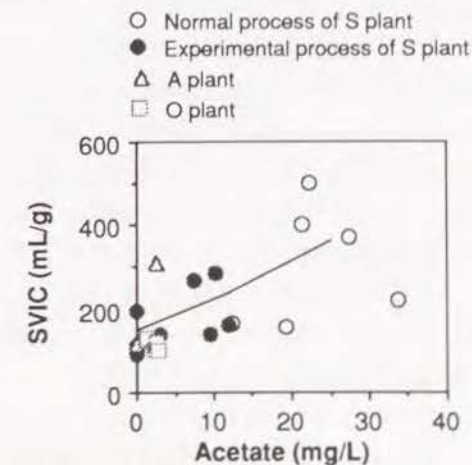


Fig. 4.7 Relationship between acetate concentration in settled sewage and SVIC.

これらの有機酸が多く含まれる場合に、汚泥の沈降性が悪化する傾向にあった。以上のことより、溶解性蛋白質および有機酸が多く流入する場合に糸状性細菌が多く増殖する何らかの関係が存在すると思われる。

2. 2. 2 最初沈殿池における水質変化

S処理場では最初沈殿池を縮小してバルキングの抑制を行っている。Fig.4.8は、S処理場における1989年度の調査期間中の沈降性および糸状体長の変化を示したものである。9、10月は対象の第3系列のSVICが200以上あり糸状性細菌も 10^3 cm/mgMLSS以上存在する糸状性バルキング状態であるにも関わらず、最初沈殿池を縮小した第1系列は沈降性は良好で糸状性バルキングの抑制効果が認められる。しかし、11月以降は逆に第1系列の方が沈降性が悪化し、糸状性細菌の現存量は 2.6×10^3 cm/mgMLSSにまで達している。最初沈殿池の縮小のバルキング抑制効果は絶対的なものではないことがわかる。1990年度には第3系列は運転を停止し、同規模の最初沈殿池を持つ第4系列で嫌気好気法の運転を行った。最初沈殿池

内での水質変化について調べるために、1990年度には第1系列および第4系列の初沈流入水と初沈越流水の水質の比較を行った。Fig. 4.9～Fig. 4.12は初沈流入水と初沈越流水の水質を比較したものである。S処理場では余剰汚泥の処理に加圧浮上法を用いており、嫌気性消化は行っていないが、加圧浮上後の水の返送が初沈流入水の管内へ行われている。この返流水の大部分が最初沈殿池が従来の大きさの第4系列に流入するため、第1系列と第4系列で初沈流入水の水質に差が認められた。特に、第4系列の初沈流入水の有機酸濃度が高く汚泥処理系での貯留時に嫌気性醗酵が起こっていたものと考えられる。Fig. 4.9、Fig. 4.10はSS濃度と COD_{Cr} 濃度の最初沈殿池における変化を示しているが、SSおよび全 COD_{Cr} は、最初沈殿池で高分子有機物を含む浮遊物質の沈殿除去が行われるために、両系列で減少し

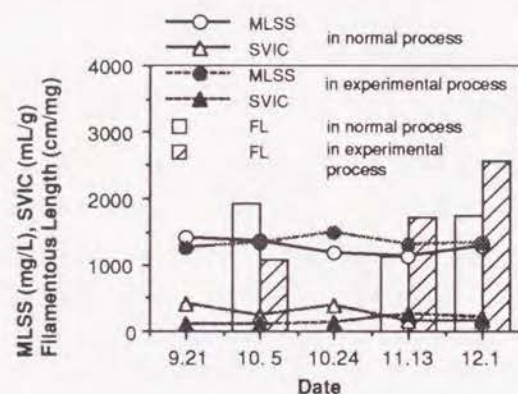


Fig. 4.8 Course of MLSS, SVIC and Filamentous length in the normal process (series 3) and the experimental process (series 1) in S wastewater treatment plant at 1989.

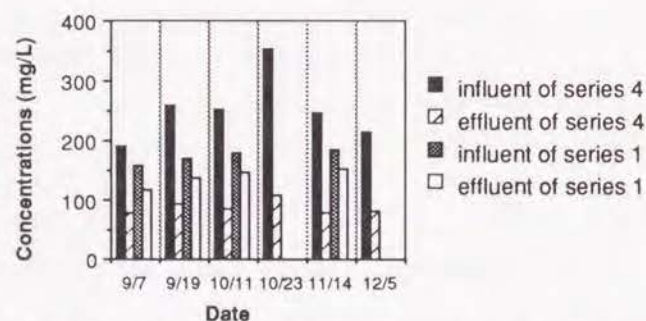


Fig. 4.9 Comparison of SS concentration in influent and effluent of primary settling tanks of S wastewater treatment plant. The volume of primary settling tank of series 4 is 4 times larger than that of series 1.

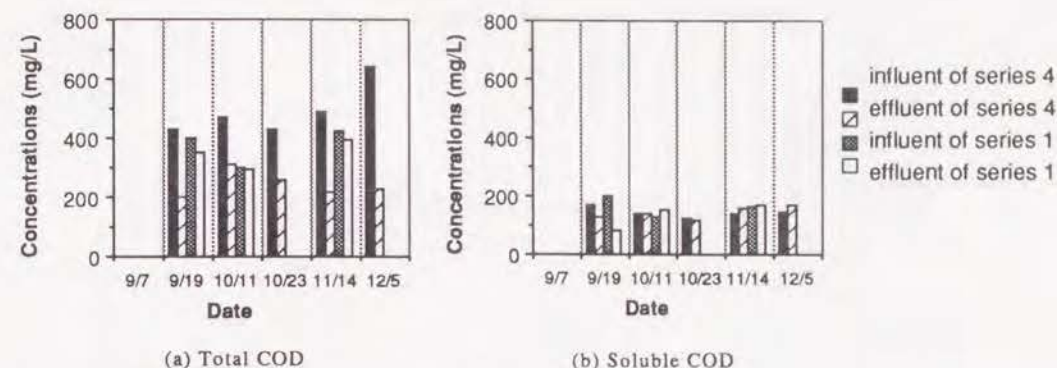


Fig. 4.10 Comparison of COD concentrations in influent and effluent of primary settling tanks of S wastewater treatment plant.

ていることがわかる。逆に溶解性 COD_{Cr} はやや増加の傾向にあった。Fig. 4.11はローリー法で検出された溶解性蛋白質濃度とアミノ酸濃度について示したものであるが、これらも微量ではあるが最初沈殿池で増加する傾向があった。このことは最初沈殿池において有機物、特に蛋白質の可溶化が起こったことを示唆するものである。Fig. 4.12は検出された有機酸の濃度について示してあるが、プロピオン酸、酪酸等の C_3 以上の有機酸が減少し酢酸が生成される傾向にあり、この傾向は最初沈殿池の大きい第4系列の方が著しかった。以上のことより最初沈殿池では浮遊物の沈殿除去のみならず有機物組成の質的な変化が起こっており、その変化は最初沈殿池が大きい場合に著しく、最初沈殿池を縮小することでその変化が抑制されると考えられる。2. 2. 1で示した様に溶解性有機物や有機酸が初沈越流水中に多く含まれるとバルキングが起こりやすい傾向にあり、最初沈殿池を縮小することによりこれらの溶解性有機物の生成量が減少すればバルキングが抑制されることが考えられる。

溶解性有機物や有機酸は糸状性細菌にとって利用しやすい有機物であるが、これらはその他の細菌にとっても利用しやすいものであり、直接糸状性細菌の増殖の原因となったとは考えにくい。そこで、糸状性細菌の増殖に影響を与えると考えられる硫酸塩還元菌の活動について検討を行った。Table 4.2は初沈流入水、初沈越流水、曝気槽および壁面付着汚泥内の硫酸塩濃度、硫化物濃度および硫酸塩還元菌数を示したものである。最初沈殿池内での硫酸塩の変化はほとんど認められず、硫化物も浮遊物の減少によって初沈内で減少する傾向にあった。しかし、硫酸塩還元菌数は初沈流入水から初沈越流水にかけて10倍から100倍に増加していた。このことは最初沈殿池内で硫酸塩還元が起こっていたことを示唆するものである。還元されて生成した硫化物は最初沈殿池表面部分で再び酸化されると考えれば、硫酸塩濃度が減少しなくても矛盾はしないであろう。ある種の硫酸塩還元菌はプロピオン酸や乳酸を酢酸までに不完全酸化することが知られている。また、水素を利用する硫酸塩還元菌が水素利用酢酸生成菌との共生関係において水素を消費することにより酢酸の生成を促すことが知られている。最初沈殿池において酢酸が生成されていたことより、硫酸塩還元菌が酢酸の生成を行ったか酢酸の生成を助け

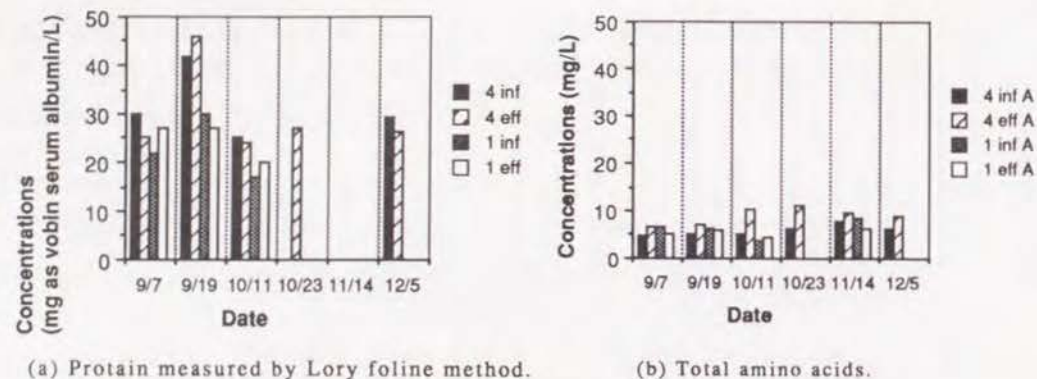


Fig. 4.11 Comparison of concentrations of protein and amino acids in influent and effluent of primary settling tanks of S wastewater treatment plant. 4 inf means influent of series 4; 4 eff means effluent of series 4; 1 inf means influent of series 1; 1 eff means effluent of series 1.

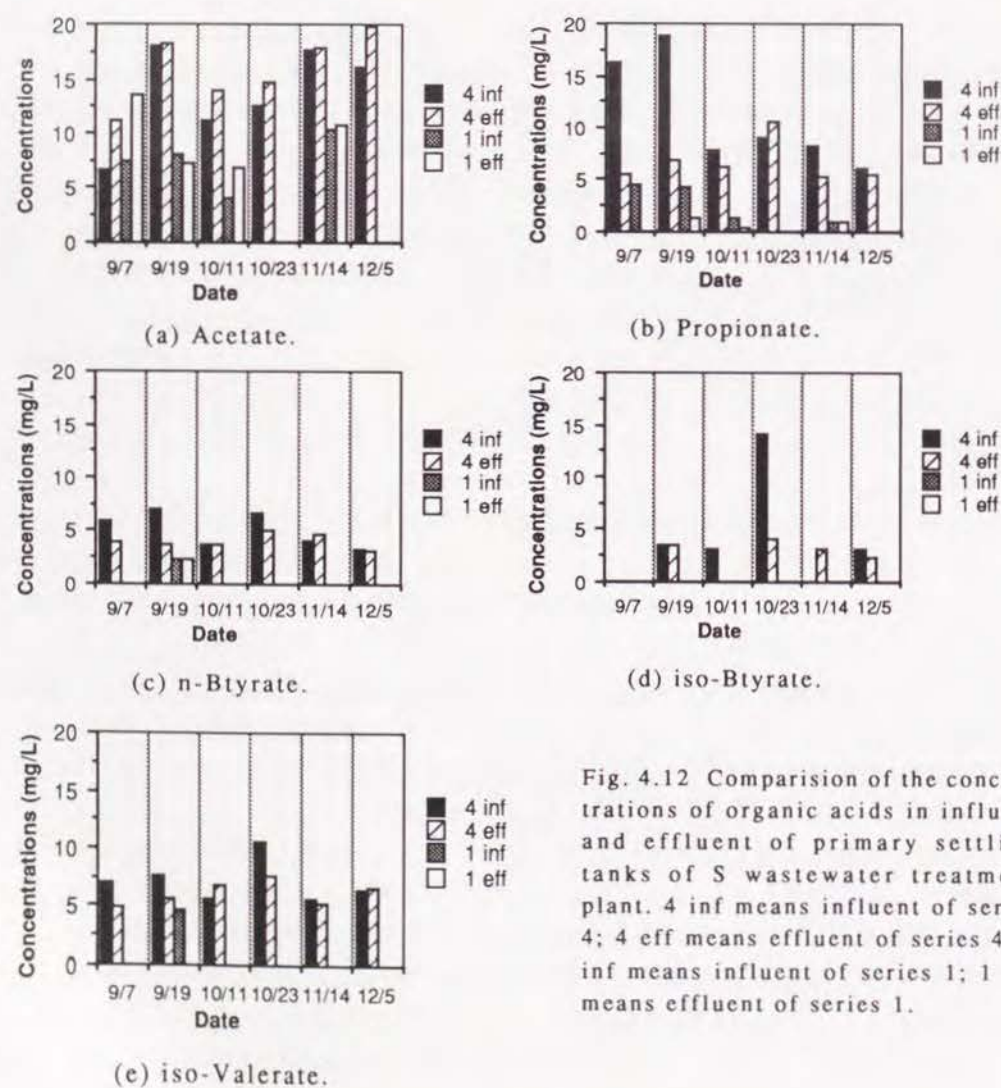


Fig. 4.12 Comparison of the concentrations of organic acids in influent and effluent of primary settling tanks of S wastewater treatment plant. 4 inf means influent of series 4; 4 eff means effluent of series 4; 1 inf means influent of series 1; 1 eff means effluent of series 1.

Table 4.2 The concentrations of sulfate and sulfide, and the number of sulfate reducing bacteria in the influent and effluent of primary settling tank, activated sludge mixed liquor and wall growing sludge.

	The number of sulfate reducing Bacteria (*1MPN/L, *2MPN/g)	Sulfide Content (*3mg/L, *4mg/g)	Sulfate Concentration (mg/L)
Normal process of S Plant			
influent of primary settling tank	$2.8 \sim 16 \times 10^6$ *1	$0.006 \sim 0.066$ *3	18.2~19.0
effluent of primary settling tank	$26 \sim 110 \times 10^6$ *1	$0.012 \sim 0.037$ *3	20.1~22.7
aeration tank mixed liquor	$1.1 \sim 6.5 \times 10^6$ *2	$0.012 \sim 0.093$ *4	19.4~31.4
wall growing sludge	$1.0 \sim 32 \times 10^6$ *2	$0.003 \sim 0.012$ *4	-
Experimental process of S Plant			
influent of primary settling tank	$48 \sim 110 \times 10^6$ *1	$0.027 \sim 0.043$ *3	19.3 ~ 20.9
effluent of primary settling tank	$6.6 \sim 48 \times 10^6$ *1	$0.014 \sim 0.017$ *3	18.2 ~ 20.4
aeration tank mixed liquor	$1.8 \sim 11 \times 10^6$ *2	$0.024 \sim 0.043$ *4	-
wall growing sludge	-	-	-
A Plant			
effluent of primary settling tank	16×10^6 *1	0.0031 *3	18.2
aeration tank mixed liquor	17.9×10^6 *2	0.0051 *4	21.6
wall growing sludge	$10 \sim 64 \times 10^6$ *2	0.119 *4	-
O Plant			
effluent of storage tank	-	-	9.3~19.6

*1; MPN/L, *2; MPN/gMLSS, *3; mg/L, *4; mg/gMLSS.

たとえることができるであろう。一方、曝気槽内の硫酸塩濃度の変化は殆どなく、汚泥中の硫化物濃度も非常に低いが、仮に硫酸塩還元がフロックや壁面付着汚泥の内部で起こっても、液相に放出された硫化物はすばやく酸化されるため、硫酸塩濃度や硫化物含有量に大きな変化は認められないと考えられる。また、活性汚泥中には 10^6 MPN/L程度の硫酸塩還元菌が存在していた。硫酸塩還元菌数と沈降性の間には明確な関係は認められなかったが、活性汚泥中に硫酸塩還元菌が多く存在していることは、その活動が糸状性細菌の増殖に影響を与える可能性を示唆するものである。初沈越流水中に硫酸塩還元菌が多く含まれると、活性汚泥内での硫酸塩還元菌の増殖の引き金になり、硫酸塩還元が活発化することも考えられる。

いずれにせよ最初沈殿池での硫酸塩還元を伴う嫌気性反応は後続の曝気槽内の微生物生態系に大きな影響を与えるものと考えられる。最初沈殿池での嫌気性変化は下水の滞留時間のみならず、汚泥の滞留時間や最終沈殿池汚泥の一時貯留の有無、汚泥処理水の返送等、様々な要因に左右されるものと考えられるが、水質変化を最小限に止めることが、パルキングの抑制に効果的であると考えられる。

第3節 グルコースとペプトンで馴養した活性汚泥 における硫酸塩還元について

3.1 実験方法

3.1.1 実験装置と運転方法

本節ではグルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて活性汚泥の馴養を行い、硫酸塩還元と糸状性バルキングの関連性について検討を行った。実験はFig. 4.13に示すような回分式（システム1）と連続式（システム2）の2種類の装置を用いて行った。システム1は20Lの回分式装置で注入、曝気、沈澱排水の工程を液面制御装置とタイマーによって自動的に行うものである。運転は6時間で1サイクルとし、2時間嫌気状態で14Lの廃水を注入した後、3時間曝気し、汚泥部を6L残して上澄みの排出を行った。余剰汚泥として1日1回4Lの混合液を曝気終了直前に引き抜いた。Table 4.3は運転条件と人工廃水の組成を示したものである。Run 4.1では人工廃水中の硫酸塩は水道水のみとし、硫酸カリウムの添加は行っていない。Run 4.2とRun 4.3では硫酸カリウムの添加を行った。どの運転においても装置壁面に汚泥の付着が認められた。Run 4.2では壁面に付着した汚泥を1日1回取り除いた。それぞれ、運転開始時に金沢市のA都市下水処

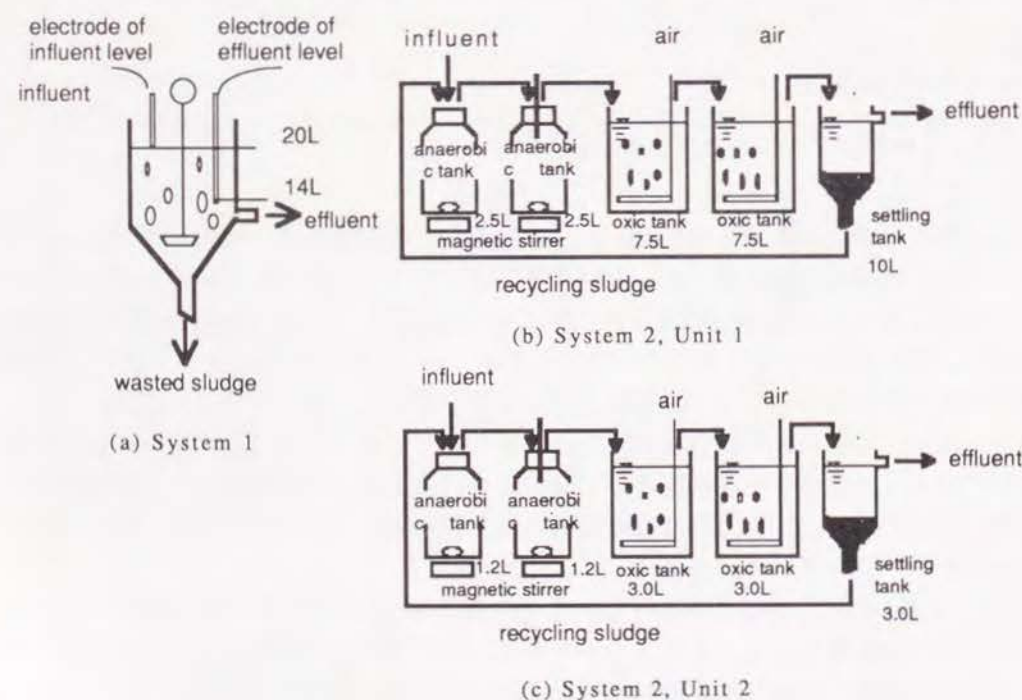


Fig. 4.13 Experimental set up.

Table 4.3 Technological Parameters of Sequential Batch Reactor Activated Sludge System.

	System 1		
	Run 4.1	Run 4.2	Run 4.3
Feeding time (hrs)	2	2	2
Aeration time (hrs)	3	3	3
Settling time (hrs)	1	1	1
SRT in the whole system(days)	5	5	5
Temperature (°C)	25	25	25
Composition of synthetic wastewater (mg/L)			
glucose	250	250	250
peptone	250	250	250
KH ₂ PO ₄	75	75	75
NaHCO ₃	150	150	150
CaCl ₂	38	38	0
MgCl ₂ 6H ₂ O	125	125	0
FeCl ₃ 6H ₂ O	2.5	2.5	0
K ₂ SO ₄	0	75	75
Volumetric load on COD _{Cr} base (kg COD _{Cr} /m ³ day)	1.12	1.12	1.12

Table 4.4 Technological Parameters of Continuous Anaerobic-Oxic Activated Sludge System.

	System 2		
	Run 4.4	Run 4.5	Run 4.6
Volume of anaerobic tank	2.5 L x 2	2.5 L x 2	1.2 L x 2
Volume of oxic tank	7.5 L x 2	7.5 L x 2	3.0 L x 2
Volume of settling tank	10 L x 1	10 L x 1	3.9 L x 1
HRT in the whole system(hrs)	25	25	29
Recycling ratio	1	1	1
Temperature (°C)	14~19	14~19	20
Composition of synthetic wastewater (mg/L)			
glucose	500	250	50
peptone	500	250	750
KH ₂ PO ₄	150	50	150
NaHCO ₃	300	150	450
CaCl ₂	75	38	115
MgCl ₂ 6H ₂ O	250	125	375
FeCl ₃ 6H ₂ O	5	3	7.5
K ₂ SO ₄	150	75	225
Volumetric load on COD _{Cr} base (kg COD _{Cr} /m ³ day)	1.15	0.58	1.44

理場の余剰汚泥を10L種汚泥として投入した。システム2は連続型嫌気好気活性汚泥装置である。装置Aは2.5Lの嫌気槽2槽と7.5Lの曝気槽2槽からできており、装置Bは1.2Lの嫌気槽2槽と3.0Lの曝気槽2槽からなっている。Table 4.4 はシステム2を用いたRun 4.4～Run 4.6の運転条件と人工廃水の組成を示したものである。装置Aはシステム1と同様にA都市下水処理場の余剰汚泥を種汚泥としてTable 4.4に示すRun 4.4の条件で運転を開始し、25日後に人工排水の濃度が1/2のRun 4.5の条件に切り換えた。装置BはA都市下水処理場の余剰汚泥を種汚泥としてRun 4.6の条件で運転を行った。

3. 1. 2 分析方法

すべての運転において、余剰汚泥を用いてMLSS、SVIおよびSVICの測定をほぼ毎日行った。糸状性細菌の現存量の指標として糸状体長の測定を不定期に行った。出現した糸状性細菌について、糸状性細菌の形態的な特徴に基づく分類を、Eikelboomの方法⁸⁾と河野の方法⁹⁾を用いて行った。運転開始から2週間以上経過した後、回分装置では任意のサイクルについて排水注入時から0.5～1時間おきに曝気槽混合液を採取し、その水質分析を行った。連続装置では、各槽の混合液と流入廃水および流出水、返送汚泥について分析を行った。分析項目は0.45μmメンブレンフィルターろ液について、硫酸塩、りん酸塩、炭水化物、蛋白質濃度、汚泥について硫化物、炭水化物およびPHB含有量である。炭水化物含有量は汚泥混合液20mLを遠心分離し、沈澱汚泥にH₂SO₄(4+1)溶液を5mL添加して5分間処理した後全量を100mLとして、分析直前に超音波破壊を行い、アンスロン法による測定を行った(第3章参照)。PHB含有量については、汚泥10mLを用いdisk assayを一部改良して用いた(第3章参照)。その他の分析項目については全節(4.2)と同様の方法を用いた。また、活性汚泥中および壁面付着汚泥中の硫酸塩還元菌数を、全節と同様な方法によって数回測定した。

3. 1. 3 回分実験

活性汚泥と壁面付着汚泥を用い、嫌気条件下での硫酸塩還元を伴う有機物分解について回分実験によって検討した。回分実験には、嫌気条件下で多く検出されたプロピオン酸を用いた。混合液10mLを25mLのバイアル瓶に移し、プロピオン酸100mg/LとTable 4.5に示す無機塩からなる基質を投入した。酸素の混入を防ぐために密栓し20℃で培養した。一定時間ごとにバイアル瓶を開栓し、有機酸濃度と硫酸塩濃度の測定を行った。

Table 4.5 Composition of minerals in the medium of batch experiments.

	Concentration (mg/L)
KH ₂ PO ₄	92
NaHCO ₃	71
KCl	174
MgSO ₄ ·7H ₂ O	52

3. 2 実験結果と考察

3. 2. 1 生成した活性汚泥の特徴

Fig. 4.14とFig. 4.15は、実験期間中のMLSSとSVICの日変化を示したものである。Table 4.6に生成した活性汚泥の特徴と汚泥中に出現した糸状性細菌の種類をまとめて示した。

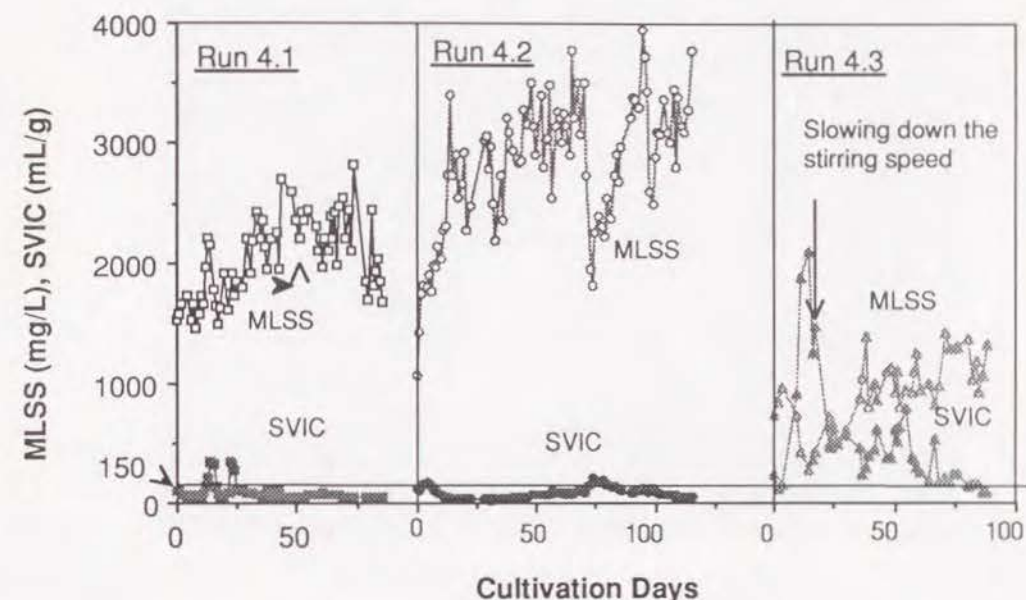


Fig. 4.14 The time courses of MLSS and SVIC in the sequential batch reactor system.

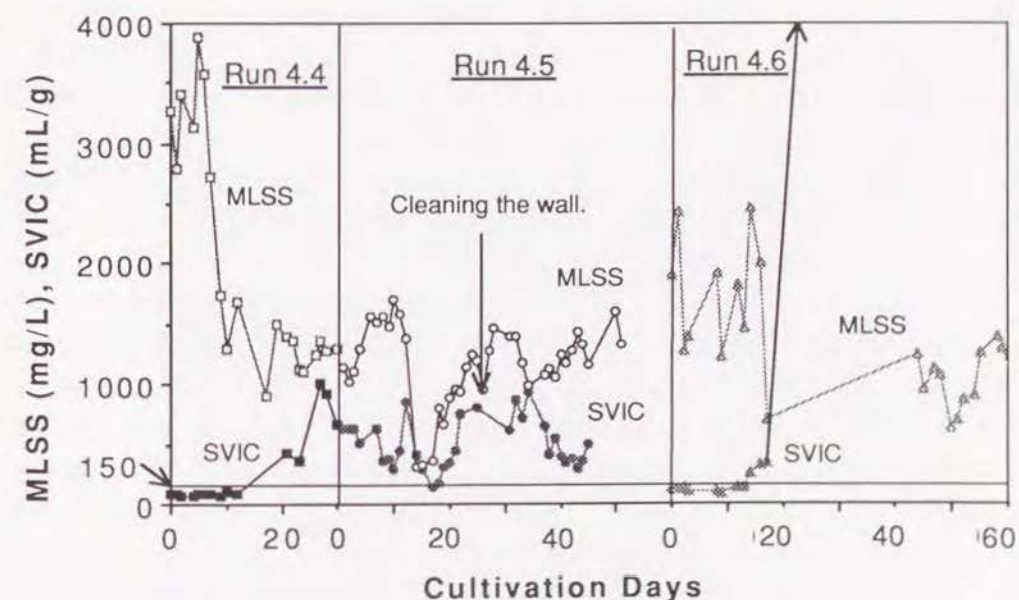


Fig. 4.15 The time courses of MLSS and SVIC in the anaerobic-oxic continuous system.

Table 4.6 Characteristics of produced activated sludge of Run 4.1 to Run 4.6.

	MLSS* (mg/L)	SVIC* (mL/g)	Filamentous Length** (cm/mgMLSS)	Predominant Filamentous bacteria
Run 4.1	2210	61.6 (42.9~110)	-	non
Run 4.2	2980	87.1 (46.6~199)	-	Type 021N
Run 4.3	1000	357 (80.0~634)	8.6×10^3	<i>Beggiatoa</i> sp.
Run 4.4	1290	788 (662~913)	-	Type 021N
Run 4.5	1220	538 (297~941)	-	Type 021N
Run 4.6	882	∞	6.24×10^3	Type 021N

*: Average (minimum~maximum) values which were obtained from everyday measurement after 4 weeks of cultivation.

**: Average values which were obtained from several times measurement.

∞ : The sludge did not settle at all even if the dilution ratio was over 16 times.

Run 4.1 では沈降性がよく糸状性細菌は殆ど認められなかった(Photo. 4.1)。Run 4.2 では、運転開始から5週間後にType 021Nが増殖し沈降性がやや悪化した(Photo. 4.2)。Run 4.3 では、当初*Sphaerotilus natans*が増殖し沈降性が悪化して汚泥の流出を招いたが、17日後に攪拌速度を低下した結果、*Sphaerotilus natans*が抑制された。速い攪拌状態では、*Sphaerotilus natans*を抑制するほどの嫌気状態が保たれなかったと考えられる。攪拌速度を低下させた後、汚泥中に*Beggiatoa* sp.が増殖した(Photo. 4.3)。Run 4.3では槽内壁面付着汚泥の除去を行わなかったため、Run 4.2よりも嫌気状態が強くなり、*Beggiatoa* sp.の増殖を招いたものと考えられる。フロックから遊離した*Beggiatoa* sp.のような糸状性細菌は、フロックから突出している*Sphaerotilus natans*やType 021Nのような糸状性細菌よりも沈降性に及ぼす効果が小さいことを報告している¹⁰⁾(第2章参照)。そのために、攪拌速度低下後、*Beggiatoa* sp.が多量に増殖したにもかかわらず、沈降性は低下前よりも回復する結果となった。連続装置で運転を行ったRun 4.4、Run 4.5およびRun 4.6では、2週間以内に糸状性バルキングが発生した(Photo. 4.4)。優先に増殖した糸状性細菌はグラム陰性で分岐がなく、イオウテストにより硫化物を酸化して細胞内に硫黄顆粒を蓄積する能力があることが確かめられた。中間的な太さ($0.8 \sim 1.0 \mu\text{m}$)や中間的な長さ($50 \sim 100 \mu\text{m}$)、真っ直ぐな糸状体で時折ロゼットを形成しており、形態的な特徴は*Thiothrix* sp.に類似していた。しかし、*Thiothrix* sp.の特徴であるはっきりとした滑らかなさやを持っておらず、河野¹²⁾がType 021N類似の糸状性細菌として分類しているII-3タイプの特徴である薄い細胞に密着した鞘状物質を持っていた。河野¹³⁾はこのようなタイプの糸状性細菌をType 021Nと*Thiothrix* sp.の中間的な性質を持つType 021Nと報告している。本研究では、このタイプの糸状性細菌をType 021Nに含むものとする。Run 4.6では16倍にまで希釈しても汚泥は全く沈降せず、SVICの値を得ることはできなかった。時折、沈殿池からの汚泥の流出が起こり、定常運転は困難であった。Run 4.5では運転開始から26日目に曝気槽の壁面を洗浄し、付着汚泥の除去を行った。その直後に沈降性が回復し始め糸

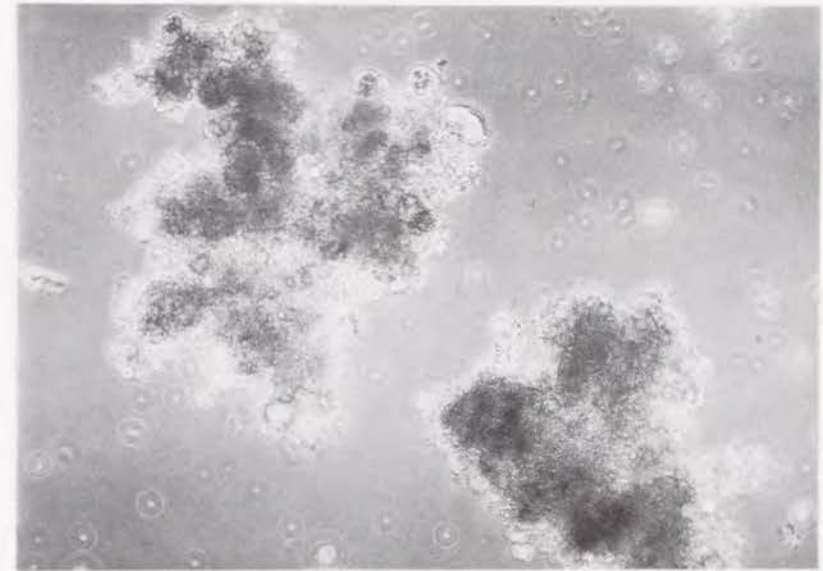


Photo. 4.1 Activated sludge of Run 4.1.



Photo. 4.2 Activated sludge of Run 4.2.



Photo. 4.3 Activated sludge of Run 4.3.

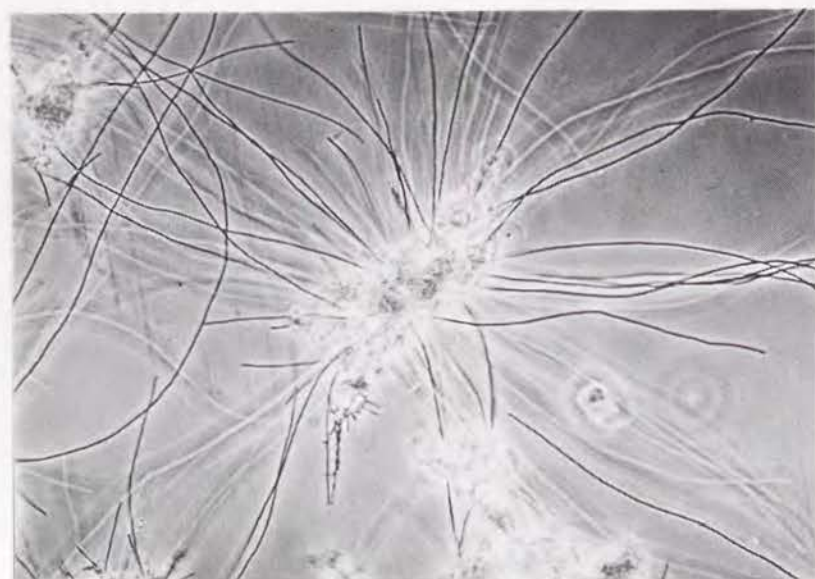


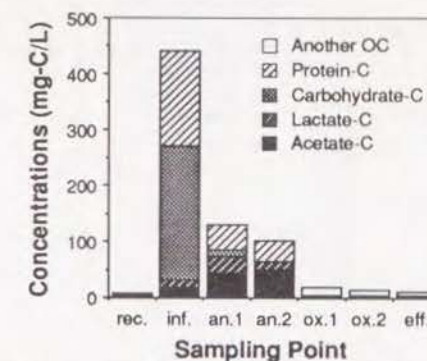
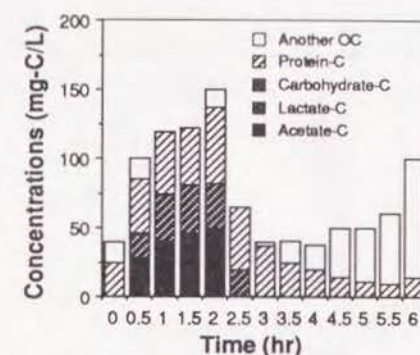
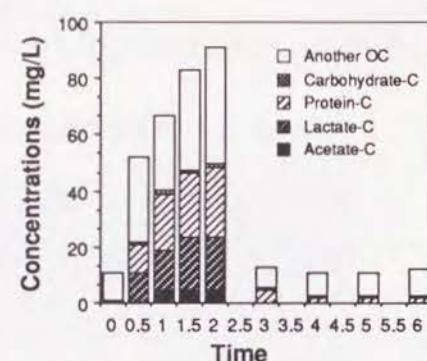
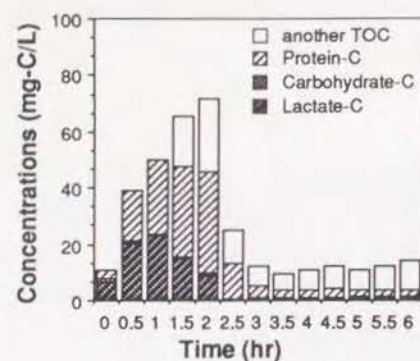
Photo. 4.4 Activated sludge of Run 4.5.

状性細菌が減少した。しかし、糸状性細菌が消失するには至らなかった。壁面への汚泥の付着が糸状性細菌の増殖に影響を及ぼすと考えられる。

3. 2. 2 各時間および各槽の水質分析結果

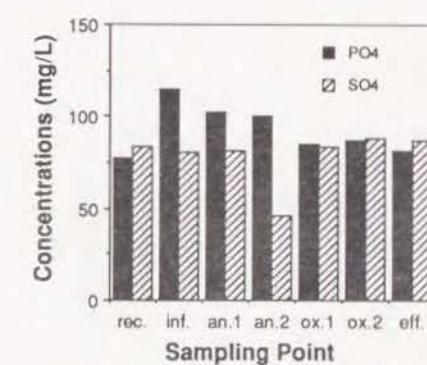
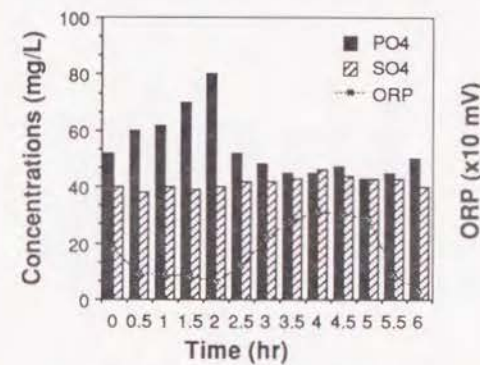
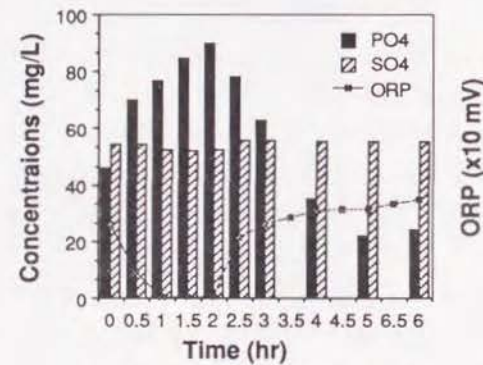
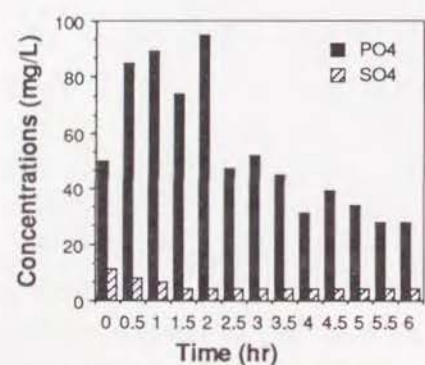
Fig. 4.16 は回分式装置 (システム 1) で運転を行った Run 4.1 ~ Run 4.3 の 1 サイクルの水質および汚泥内物質の変化の典型例を示している。Run 4.1 では廃水注入時間 (嫌気時間) にりん酸塩が増加し、曝気時間に減少することが認められた。PHB 含有量も同様に变化している。これはいわゆる Poly-P 蓄積菌によるりん酸塩の放出と過剰摂取を示すものである。水道水から供給された 12mg/L 程度の硫酸塩は、廃水注入時間にやや減少しており、硫酸塩還元が嫌気状態でわずかに起こっていたことが考えられる。しかし、曝気時間中の硫酸塩の増加は僅かであった。Run 4.2 では廃水注入時間中に 3mg/L 程度の硫酸塩の減少と酢酸、プロピオン酸、乳酸等の有機酸の生成および ORP の低下が認められた。これらの結果は、嫌気条件下で硫酸塩還元が起こっていることを示している。曝気開始後はすみやかに硫酸塩は増加し、ほぼ流入廃水濃度 (本実験では 53mg/L) まで回復している。これは主に系内に存在した糸状性硫黄酸化細菌の働きによるものと考えられる。Run 4.3 では、廃水流入直前の槽内の硫酸塩濃度は 40 mg/L であり人工廃水中の濃度よりも低下していた。これは嫌気時間に硫酸塩還元によって生成した硫化物が硫化鉄等として沈澱したか、糸状性硫黄細菌の細胞内に硫黄粒として蓄えられて硫酸に酸化されないままに余剰汚泥として引き抜かれた結果サイクルを繰り返すことによって槽内の硫酸塩濃度が低下したのと考えられる。図に示したサイクルでは、嫌気時間終了時の硫酸塩濃度は 40mg/L であり、添加した硫酸塩 (53mg/L) が全く変化しなかった場合の理論濃度 $((53 \times 14 + 40 \times 6) / 20 = 49.1)$ と比べると 9 mg/L 低くなっており、Run 4.2 よりも顕著な硫酸塩還元が起こっていた。Run 4.3 では曝気槽壁面付着汚泥の除去を行わなかったため、硫酸塩還元菌が壁面付着汚泥中に多く増殖したことが考えられる。りん酸塩濃度と PHB 含有量の増減はやや認められたが、りん酸塩の除去率は低かった。

Fig. 4.17 は連続式装置 (システム 2) で運転を行った Run 4.4 ~ Run 4.6 の各槽の水質および汚泥内物質の典型例を示したものである。すべての運転において嫌気槽で硫酸塩濃度の著しい減少が認められた。特に、最も高い負荷で運転した Run 4.6 では硫酸塩の減少が最も顕著に起こり、嫌気槽 2 槽目で硫酸塩は殆ど消失していた。検出された硫化物量は硫酸塩の減少と比較するとわずかではあるが、嫌気槽流出水を採取したため、試料採取に時間を要し硫化水素が気相に放出されたことと、汚泥内に硫黄粒として蓄積されたこと等のためと考えられる。嫌気槽で硫酸塩が減少し硫化物が低濃度ではあるが検出されたことは硫酸塩還元の起こったことを示すものと考えられる。曝気槽では糸状性硫黄細菌等の硫酸化細菌の働きにより硫酸がすみやかに増加して流入廃水の濃度に近づいている。最終沈澱池では、再び硫酸塩還元が起こって硫酸塩濃度がやや減少した。りん酸塩の放出と取り込みは非常に少なく、特に硫酸塩還元が最も顕著だった Run 4.6 ではほとんど認められず、硫酸塩還元によるりん除去の阻害が考えられる。嫌気槽では主に、乳酸、プロピオン酸、酢酸等の有機酸が検出され、Run 4.6 では酢酸の生成量が最も多かった。このことは、硫酸塩還元と酢酸生成の関連性を示唆するものである。



(a)-1. Carbohydrate, protein and organic acids (b)-1. Carbohydrate, protein and organic acids

(c)-1. Carbohydrate, protein and organic acids. (a)-1. Carbohydrate, protein and organic acids.

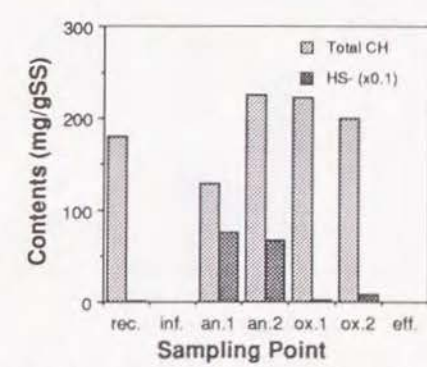
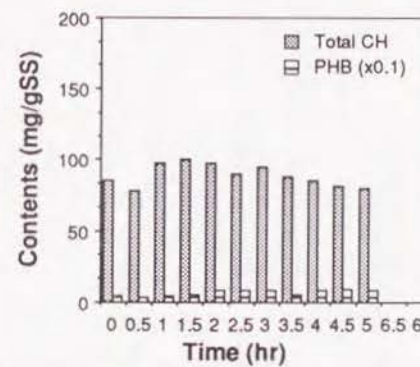
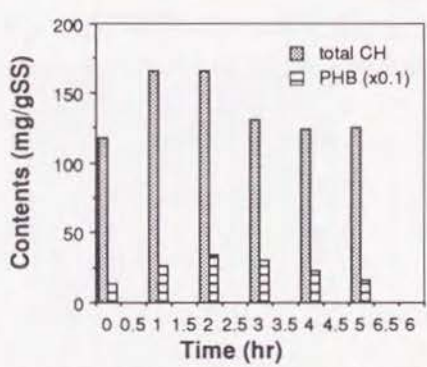
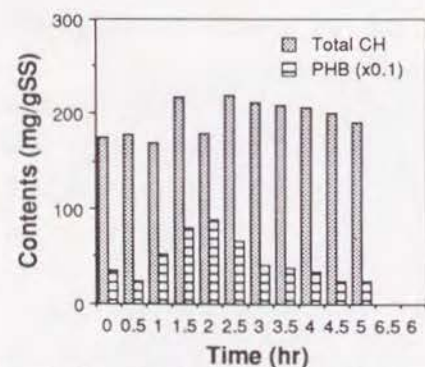


(a)-2. Sulfate and phosphate.

(b)-2. Sulfate and phosphate.

(c)-2. Sulfate and phosphate.

(a)-2. Sulfate and phosphate.



(a)-3. Carbohydrates and PHB contents.

(b)-3. Carbohydrates and PHB contents.

(c)-3. Carbohydrates and PHB contents.

(a)-3. Carbohydrates and sulfide contents.

(a) Run 4.1

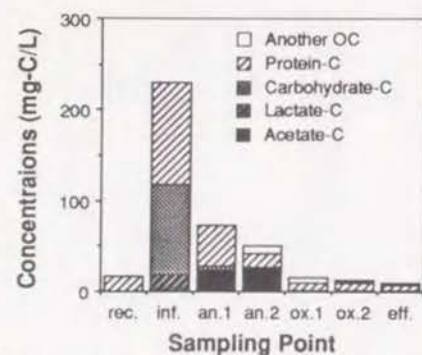
(b) Run 4.2

Fig. 4.16 (c) Run 4.3

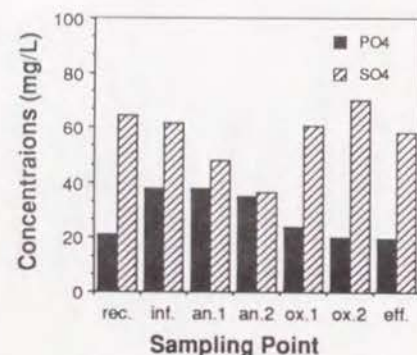
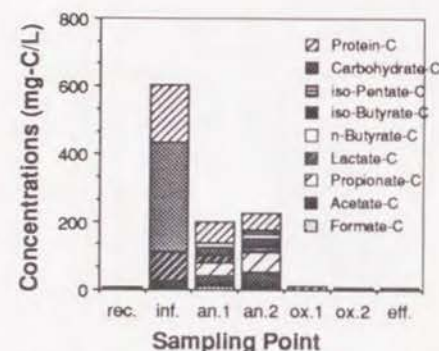
(a) Run 4.4

Fig. 4.16 The results of the concentrations of analyzed substances at each time of a feeding schedule of Run 4.1 to Run 4.3 operated in the sequential batch reactor system (System 1)

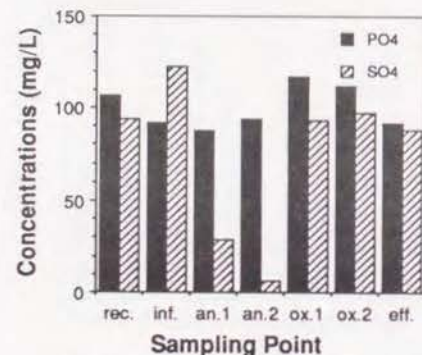
Fig. 4.17 The results of the concentrations of analyzed substances in each tank of the anaerobic-oxic continuous system (System 2).



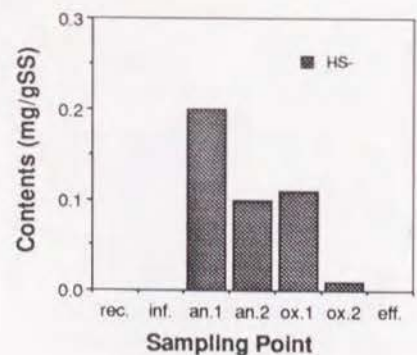
(b)-1. Carbohydrate, protein and organic acid. (c)-1. Carbohydrate, protein and organic acids.



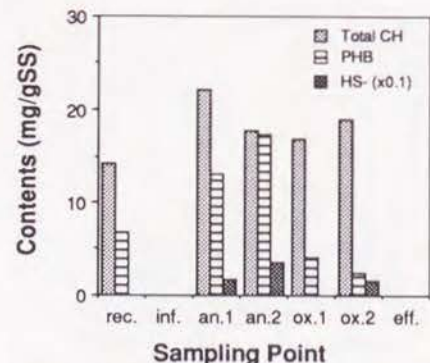
(b)-2. Sulfate and phosphate.



(c)-2. Sulfate and phosphate.



(b)-3. Sulfide contents.



(c)-3. Carbohydrates, PHB and sulfide contents.

Fig. 4.17 (b) Run 4.5

(c) Run 4.6

3. 2. 3 硫酸塩還元が糸状性細菌の増殖とリン除去に及ぼす影響

嫌気時間および嫌気槽における硫酸塩還元率は次式のように計算することができる。

システム 1 (回分式)

$$R_s = \frac{(S_f \times (V - V_0) + S_0 \times V_0 - S \times V)}{S_f \times (V - V_0) + S_0 \times V_0}$$

S_f : 廃水中の硫酸塩濃度

S_0 : 廃水注入前の槽内の硫酸塩濃度

S : 廃水注入終了時の槽内の硫酸塩濃度

V_0 : 廃水注入前の混合液量

V : 廃水注入終了時の混合液量

システム 2 (連続式)

$$R_s = \frac{S_f \times Q + S_r \times q - S \times (Q + q)}{S_f \times Q + S_r \times q}$$

S_f : 廃水中の硫酸塩濃度

S_r : 返送汚泥中の硫酸塩濃度

S : 嫌気第 2 槽の硫酸塩濃度

Q : 廃水流入流量

q : 返送汚泥流量

Fig. 4.18、Fig. 4.19は硫酸塩還元率と回分装置 (システム 1) における廃水注入終了時のORP および連続装置 (システム 2) における嫌気第 2 槽のORPの関係を示したものである。硫酸塩還元率が增大するとORPが減少する傾向が認められた。回分装置では、槽から混合液を採取してORPの測定を行ったため、連続装置よりもORP値が高く現れている。Run 4.2 において槽内にORP電極を浸漬して測定した結果、廃水流入終了時にはORP値は-100mV以下になってい

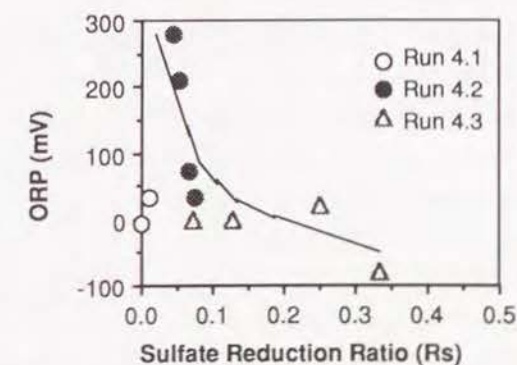


Fig. 4.18 Relationship between sulfate reduction ratio and ORP at the final feeding period in the sequential batch reactor system (System 1).

た。ORPの減少は硫酸塩還元を示すものと考えられたので、本研究では上式で求めた硫酸塩還元率 R_s を硫酸塩還元の指標として用いることとした。

硫酸塩還元率と実験当日のSVICの関係をプロットした結果、回分式では硫酸塩還元率が高くなると沈降性が悪化する傾向が認められたが、連続装置については明確な関係は認められなかった。これは連続法においては、沈降性が安定しておらず、実験当日の硫酸塩還元がその日の沈降性に影響を及ぼす訳ではなく、硫酸塩還元が一因となって糸状性細菌が増殖するまでに時間を要したためと考えられる。本実験では混合液の1/5を1日1回引き抜いたため、糸状性細菌の増殖に影響が見え始めるのは5日後と考えると、硫酸塩還元率と5日後のSVICの関係をFig. 4.20、Fig. 4.21に示した。硫酸塩還元率が増大すると5日後の沈降性は悪化することがわかる。嫌気時間または嫌気槽における硫酸塩還元が硫化物をエネルギー源として利用できる糸状性細菌Type 021Nや*Beggiatoa* sp.の増殖の一因となったものと推定できる。また、回分式のRun 4.3ではRun 4.1やRun 4.2よりも硫酸塩還元率が高く、これが硫化物濃度が高い条件で増殖する*Beggiatoa* sp.の増殖の一因となったと考えられる。Fig. 4.22、Fig. 4.23は、硫酸塩還元率とりん除去率の関係を示したものである。嫌気好気法の運転を

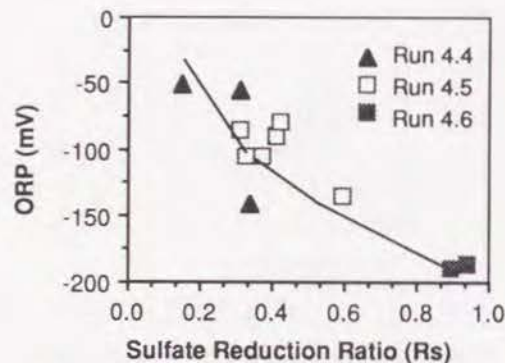


Fig. 4.19 Relationship between sulfate reduction ratio and ORP in the second anaerobic tank of the anaerobic-oxic continuous system (System 2).

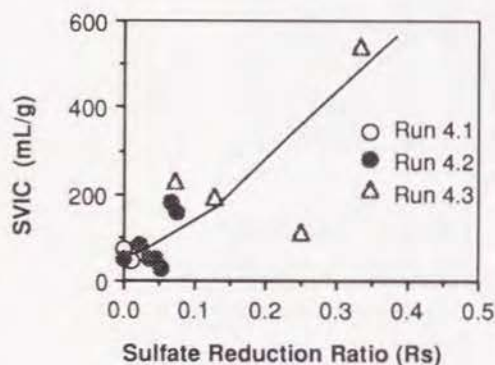


Fig. 4.20 Relationship between sulfate reduction ratio and SVIC in the sequential batch reactor system (System 1).

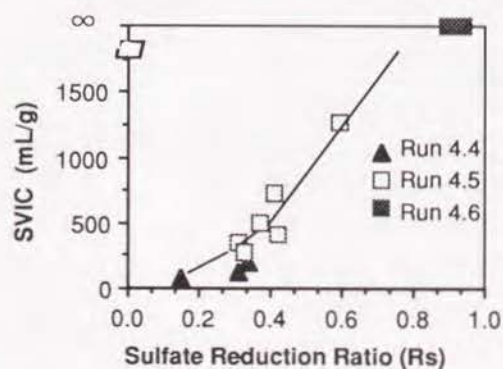


Fig. 4.21 Relationship between sulfate reduction ratio and SVIC in the anaerobic-oxic continuous system (System 2).

行っているにもかかわらずりん酸塩の除去率は全体的に低く最高でも62%であったが、硫酸塩還元率が増加するとりん除去率が低下する傾向が認められた。硫酸塩還元菌によって生成された硫化物がPoly-P蓄積菌の活動を阻害したか、硫酸塩還元菌とPoly-P蓄積菌の間に有機物をめぐる競合関係が成立していたことが考えられる。

Wannerら¹³⁾はType 021Nや*Sphaerotilus natans*は硝酸性窒素を電子受容体として利用することができないために、無酸素条件下では抑制されると報告している。Shao and Jenkins¹⁴⁾は無酸素槽によるバルキングの抑制には無酸素セクターから流出する溶解性COD_{Cr}を100mg/Lに、易分解有機物をほとんど0 (1mg/L以下) とすることができると十分なセクターの滞留時間と硝酸濃度が必要であると報告している。更に、*Thiothrix* sp. とType 021Nの脱窒能を調べ、両者はNO₃-Nを用いた脱窒はできず、NO₂-Nだけ

をN₂にすることはできるがその速度は*Zoogrea ramigera*と比較するとずっと遅いことを証明した。Wannerら¹⁵⁾は、Type 021Nや*Sphaerotilus natans*の嫌気条件下でのPoly-P分解速度が非常に遅いため、嫌気条件下で抑制されると報告した。これらの3編の報告は無酸素条件や嫌気条件でのバルキングの抑制の理由を説明したものであるが、栄養塩除去を行わない好気性だけの活性汚泥プロセスにおいて何故糸状性細菌が増殖するかについての説明はなされていない。本実験において、回分装置の廃水注入終了時や連続装置の嫌気第2槽において利用可能な有機物は十分に残存していた。Type 021Nは曝気時間または曝気槽において、硫酸塩還元菌によって生成された硫化物と有機物の両者を電子供与体として利用することができたと考えられる。もし、硫酸塩還元が起らなかったなら、Poly-P蓄積菌が優勢に増殖して嫌気時間または嫌気槽において有機物の取り込みを行った結果、好気時間または好気槽に持ち込まれる有機物が減少したであろう。即ち、好気性細菌であるType 021Nは硫化物も有機物も利用することができなくなり、その結果、バルキングは抑制されたかもしれない。このように、Type 021Nの増殖と硫酸塩還元とを結び付けて考えても矛盾しないことになる。硫酸塩還元の抑制がバルキング抑制とりん除去の安定化に非常に重要であると考えられる。

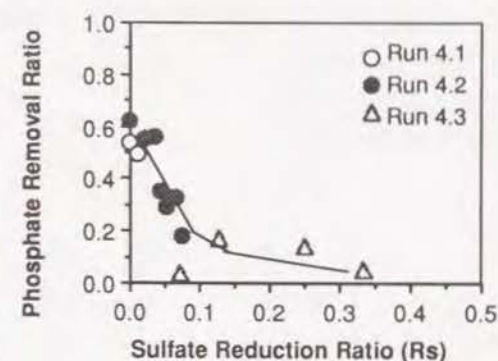


Fig. 4.22 Relationship between sulfate reduction ratio and phosphate removal ratio in the sequential batch reactor system (System 1).

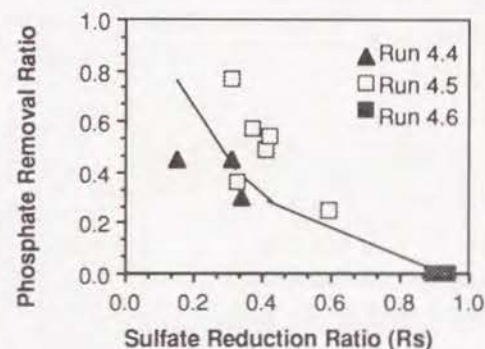


Fig. 4.23 Relationship between sulfate reduction ratio and phosphate removal ratio in the anaerobic-oxic continuous system (System 2).

3. 2. 4 活性汚泥の有機物分解に果たす硫酸塩還元菌の役割

硫酸塩還元菌は嫌気条件下で主に通性嫌気性細菌によって生成される有機酸を利用して生成されたと考えられる。嫌気時間または嫌気槽において主に乳酸、プロピオン酸および酢酸が検出された。ある種の硫酸塩還元菌は乳酸やプロピオン酸を不完全酸化して酢酸を生成することが知られている¹⁰⁾。この種の代表的なものが *Desulfovibrio* sp. (*D. baarsii* は例外) と *Desulfobulbus* sp. である。*Desulfobacter* sp. や *Desulfotomaculum acetoxidans* のように酢酸を完全酸化する硫酸塩還元菌も自然界には多く存在する。Fig. 4.24 および Fig. 4.25 は、本実験における嫌気時間または嫌気槽において還元された硫酸塩と生成された酢酸塩の関係を示したものである。図中の直線は硫酸塩還元菌が酢酸を生成したと仮定した理論線である。硫酸塩の還元量が多いと酢酸が多く生成されることがわかる。生成された酢酸量は理論値よりも多くなっているのは硫酸塩還元菌以外の酸生成細菌が酢酸を生成するためであろう。本実験装置で育成した硫酸塩還元菌は主に酢酸を生成するタイプのものであり、酢酸を利用するタイプではないと考えられる。

Run 4.6 の活性汚泥と壁面付着汚泥を用いて嫌気条件下での硫酸塩還元を伴うプロピオ

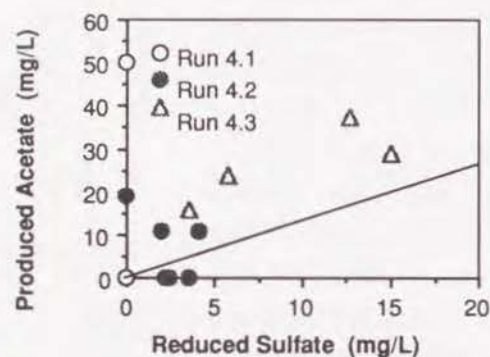


Fig. 4.24 Relationship between reduced sulfate and produced acetate in the sequential batch reactor system (System 1).

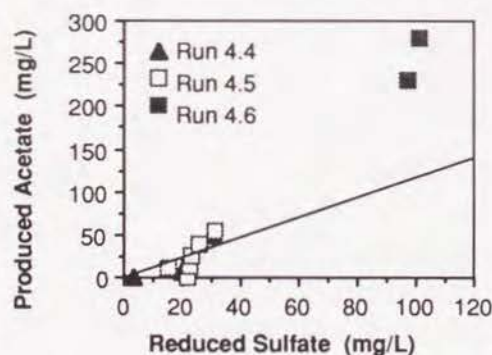


Fig. 4.25 Relationship between reduced sulfate and produced acetate in the anaerobic-oxic continuous system (System 2).

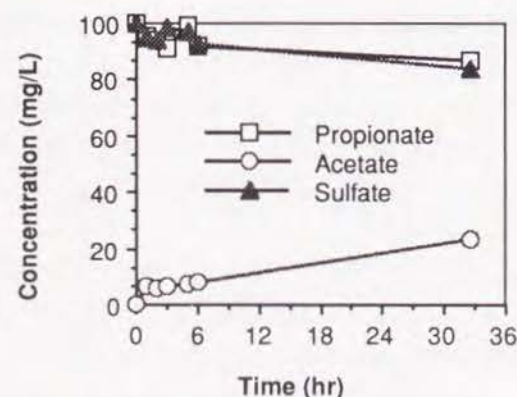


Fig. 4.26 A result of batch experiment using propionate as a carbon source in the anaerobic conditions.

ン酸の分解について回分試験を行った。Fig. 4.26 はその結果の一例を示したものである。プロピオン酸の除去に伴って、酢酸の増加と硫酸塩の減少が認められる。同様の結果がすべての実験において認められた。硫酸塩還元速度を一次反応と仮定して、比硫酸塩還元速度を計算した結果、活性汚泥で $0.391 \text{ /gSS} \cdot \text{hr}$ 、壁面付着汚泥で $0.211 \text{ /gSS} \cdot \text{hr}$ であった。汚泥単位重量あたりの硫酸塩還元活性は活性汚泥の方が壁面付着汚泥よりもやや高いものと考えられる。Fig. 4.27、Fig. 4.28 は回分試験における硫酸塩減少量と酢酸生成量およびプロピオン酸除去量の関係を示したものである。図中の直線はプロピオン酸がすべて硫酸塩還元菌によって酢酸に転換されたと仮定した理論線であるが、実験結果とよく一致している。これらの結果より、本実験装置内の硫酸塩還元菌はプロピオン酸や乳酸からの酢酸の生成に重要な役割を果たしていたと考えることができるであろう。

3. 2. 5 活性汚泥中の硫酸塩還元菌数

Run 4.6 の活性汚泥混合液と壁面付着汚泥中の硫酸塩還元菌数を MPN 法によって計数した。Fig. 4.29 は計数値の日変化を示している。ほぼ 10 日の培養で計数値は一定となっていることより 10 日後の値を MPN 値とすることとした。Table 4.7 に本実験で得られた硫酸塩還元菌数をまとめて示した。乾燥重量で 1 g の活性汚泥中には $10^7 \sim 10^8$ MPN の硫酸塩還元菌が増殖していた。一般に活性汚泥の生菌数は単位乾燥重量当たり 10^{10} 個程度といわれており、硫酸塩還元菌は活性汚泥細菌の $0.1 \sim 1\%$ を占めていることになる。一方、壁面付着汚泥中には 10^9 MPN/g の硫酸塩還元菌が計数された。壁面付着汚泥の内部には酸

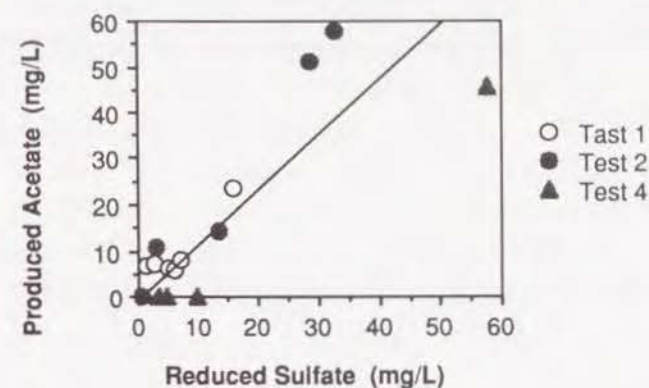


Fig. 4.27 Relationship between reduced sulfate and produced acetate in the batch experiments.

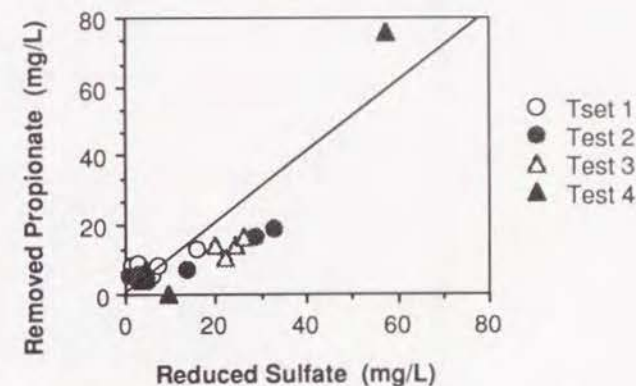


Fig. 4.28 Relationship between reduced sulfate and removed propionate in the batch experiments.

素は浸透しにくい状態となり、硫酸塩還元菌が増殖することは容易に予想できる。しかし、壁面付着汚泥の総量は活性汚泥の量に比べて非常に少ないので、実際には活性汚泥中の硫酸塩還元菌の総量の方が多いと推定される。活性汚泥ブロック内部と壁面付着汚泥内部の両方に生育した硫酸塩還元菌が糸状性細菌の増殖やりん除去の抑制に影響しているであろう。壁面付着汚泥の除去は硫酸塩還元菌の抑制に有効ではあるが、硫酸塩還元菌はブロック内部にも増殖しているため、完全に硫酸塩還元を抑制することはできないと考えられる。糸状性バルキングの抑制とりん除去の安定化のためには、なんらかの方法で嫌気条件下での硫酸塩還元を抑制する必要がある。流入有機物組成や、嫌気槽の運転条件等、硫酸塩還元に影響を及ぼす因子についてさらに検討を行う必要がある。

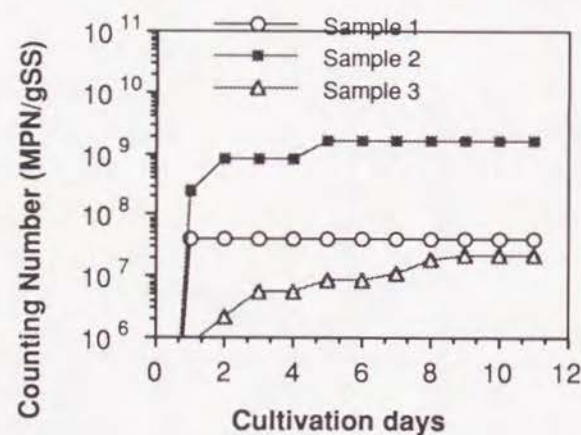


Fig. 4.29 The time courses of counting number of MPN test. Sample 1 is activated sludge in the liquid phase of Run 4.6, sample 2 is wall growing sludge of Run 4.6 and sample 3 is activated sludge of the municipal wastewater treatment plant.

Table 4.7 The Number of Sulfate Reducing Bacteria in Run 4.6.

	MPN Value (MPN/g sludge dry weight)*
Wall Growing Sludge	1.9 (1.1~3.3) x 10 ⁹
Activated Sludge	
Grown in Mixed Liquor	17.0 (4.1~40.0) x 10 ⁷

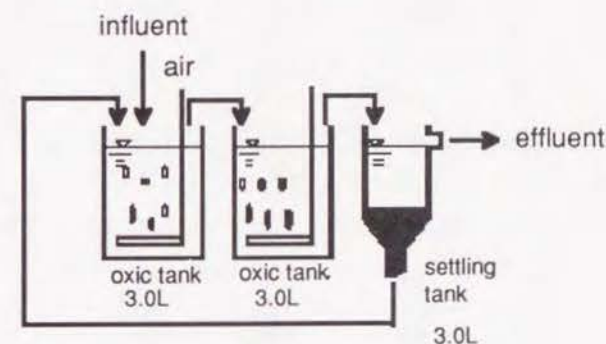
*:Average (minimum ~ maximum) values of 4 times counting.

第4節 酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における硫酸塩還元について

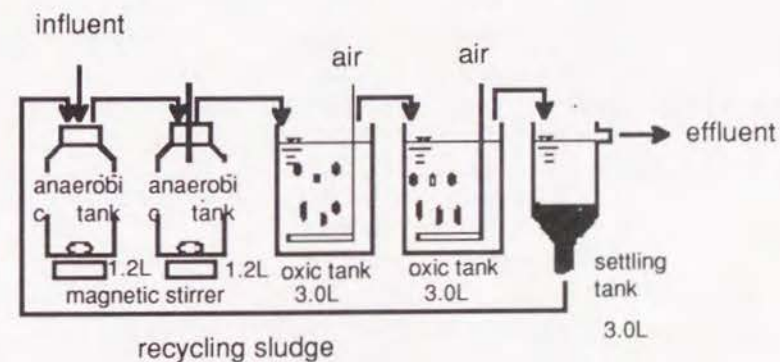
4.1 実験方法

4.1.1 実験装置と運転方法

本節では都市下水の性状に比較的近いと考えられる酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて活性汚泥の馴養を行い、硫酸塩還元について検討を行った。実験はFig. 4.30に示す連続装置を用い、標準法と嫌気好気法の2系列を並行して運転した。標準法の実験装置は3.0Lの曝気槽2個からなり、嫌気好気法は同一の曝気槽の前に1.2Lの嫌気槽を2槽接続したものである。両装置は水理学的滞留時間(HRT)を24時間となるように流量を設定して運転を行った。有機物負荷は都市下水なみに設定したが、HRTを長くにとってあるため流入廃水の濃度は都市下水よりも高く作成した。また、返送率を1に設定して



(a) Conventional system



(b) Anaerobic-oxic system

Fig. 4.30 Experimental set up.

運転を行なった。運転条件と人工廃水の組成をTable 4.8 にまとめて示した。用いた人工廃水は3種類である。Run 4.7 からRun 4.10は酢酸を単一有機炭素源とし、蛋白質は添加していない。Run 4.9 とRun 4.10の人工廃水中にはRun 4.7、Run 4.8 よりも高濃度のCa、MgとFeが含まれている。この条件では生成した硫化物は硫化鉄となって沈殿する。Run 4.7 とRun 4.9 は標準法で運転を行っており、Run 4.8 とRun 4.10は嫌気好気法である。Run 4.11とRun 4.12では、酢酸とペプトンを有機炭素源とした人工廃水を用いて運転を行ったものであり、Run 4.11は標準法、Run 4.12は嫌気好気法である。全ての実験において、余剰汚泥として1日1回曝気槽の容積の1/5にあたる300mLの混合液を曝気槽2槽目から引き抜いた。沈降性が悪くなると沈殿池から汚泥が流出したためSRTを一定に保つことはできなかった。

Table 4.8 Technological parameters of activated sludge system operated with acetate and peptone.

	Run 4.7	Run 4.8	Run 4.9	Run 4.10	Run 4.11	Run 4.12
Volume of anaerobic tank	-	1.2 L x 2	-	1.2 L x 2	-	1.2 L x 2
Volume of oxic tank	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2	3.0 L x 2
Volume of settling tank	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1	3.9 L x 1
HRT in the whole system	24	24	24	24	24	24
Recycling ratio	1	1	1	1	1	1
Temperature (°C)	20	20	20	20	20	20
Composition of synthetic wastewater (mg/L)						
CH ₃ COONa 3H ₂ O	1360	1360	1360	1360		
CH ₃ COOK					588	588
Peptone					200	200
Yeast extract					20	20
(NH ₄) ₂ SO ₄	132	132	132	132		
KH ₂ PO ₄	50	50	50	50	92	92
NaHCO ₃	150	150	1500	1500	71	71
CaCl ₂			830	830	52	52
MgCl ₂ 6H ₂ O			1250	1250		
FeCl ₃ 6H ₂ O	2.5	2.5	25	25		
KCl					174	174
MgSO ₄ 7H ₂ O					157	157
Volumetric load on COD _{Cr} base (kg COD _{Cr} /m ³ day)	0.66	0.66	0.66	0.66	0.61	0.61

4. 1. 2 分析方法

おのおのの運転について、全節と同様に余剰汚泥を用いて、MLSS、SVIおよびSVICの測定をほぼ毎日、糸状体長の測定を不定期に行った。糸状性細菌の分類も第3節と同様な方法で行った。2週間以上経過した後、各槽の水質および汚泥の分析を第3節と同様な方法で行い、硫酸塩還元菌数の計数も第3節と同様に行った。

4. 1. 3 回分実験

活性汚泥と壁面付着汚泥を用い、嫌気条件下での硫酸塩還元をとまなう有機物分解について回分実験によって検討した。Run 4.7 からRun 4.10では人工廃水中には酢酸のみが含まれており、嫌気槽ではその他の有機酸はほとんど検出されなかったことから、酢酸を用いた回分実験のみを行った。添加した無機塩の組成は第3節の回分実験と同一とした(Table 4.5参照)。実験手順は第3節の回分実験と同様である。Run 4.11とRun 4.12では、嫌気槽には種々の有機酸と蛋白質が検出されたため、これらを用いた回分実験を行った。用いた基質は、酢酸、プロピオン酸、乳酸、iso-酪酸、iso-吉草酸、ペプトンそれぞれの濃度を100mg/Lとして、Table 4.5に示す無機塩を添加したものである。実験時間を短縮するために、汚泥を遠心分離により濃縮し、乾燥重量で約50mgを25mLのバイアル瓶に移し、基質を満たすことにより、バイアル瓶内のMLSSを増加させた。また、培養中は振とう培養器によって振とうをおこなった。

4. 2 実験結果と考察

4. 2. 1 生成した活性汚泥の特徴

Fig. 4.31、Fig. 4.32、Fig. 4.33 におおのの運転におけるMLSS、SVICの日変化を、Table 4.9に生成した活性汚泥の特徴をまとめて示す。酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水を用いて運転を行ったRun 4.7 とRun 4.8 では、沈降性が直ちに悪化した。活性汚泥中にはType 021Nが多量に増殖していた(Photo. 4.5、4.6)。酢酸を単一有機炭素源とし、Ca、MgおよびFeを多量に添加した人工廃水を用い標準法で運転を行なったRun 4.9 ではType 0041の増殖によるバルキングがゆっくりと発生した(Photo. 4.7)。同様の人工廃水を用いて嫌気好気法で運転を行ったRun 4.10では30日間の運転でも糸状性細菌の増殖は認められなかった(Photo. 4.8)。酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて標準法で運転を行ったRun 4.11では当初Type 021Nによるバルキングが直ちに発生した。この期間しばしば汚泥が沈殿池に滞留して、沈殿池底部の汚泥が黒変することがあった。定常に運転を行うようになってからは、Type 021Nは徐々に減少し、優先種は河野 IV-1 タイ

Table 4.9 Characteristics of produced activated sludge of Run 4.7 to Run 4.12.

	MLSS* (mg/L)	SVIC* (mL/g)	Filament length** (cm/mg MLSS)	Filamentous bacteria*** dominant	miner
Run 4.7	260	∞	2.8 x 10 ⁴	Type 021N	
Run 4.8	290	∞	5.9 x 10 ⁴	Type 021N	
Run 4.9	670	1520	2.5 x 10 ⁴	Type 0041	
Run 4.10	900	161	2.5 x 10 ²	None	
Run 4.11	1310	1084	1.6 x 10 ⁴	Type IV-1(Kohno)	Type 021N
Run 4.12	1020	1470	7.8 x 10 ³	Type 021N	Type IV-1(Kohno)

*: Average values which were obtained from everyday measurement after 2 weeks of cultivation.

**: Average values which were obtained from several times measurement.

∞: The sludge did not settle at all even if the dilution ratio was over 16 times.

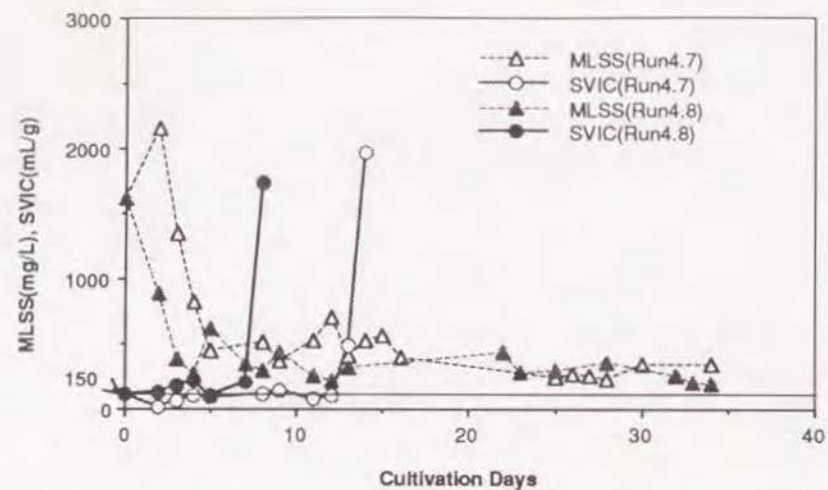


Fig. 3.31 The time courses of MLSS and SVIC of Run 4.7 and Run 4.8.

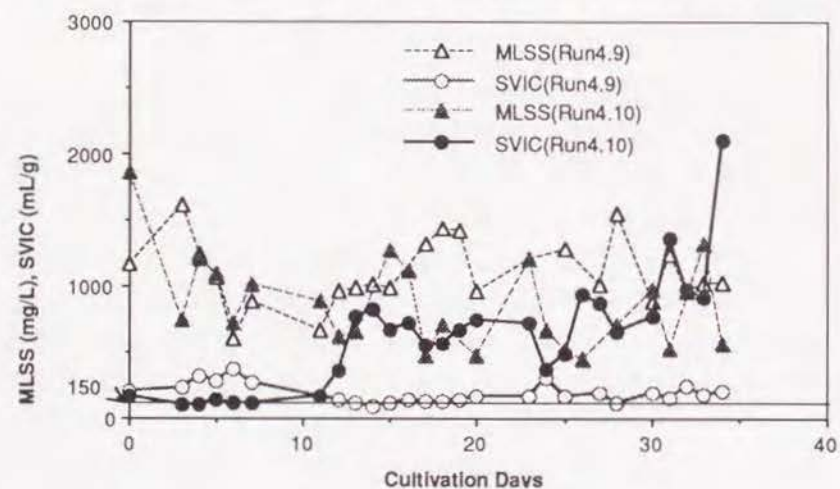


Fig. 3.32 The time courses of MLSS and SVIC of Run 4.9 and Run 4.10.

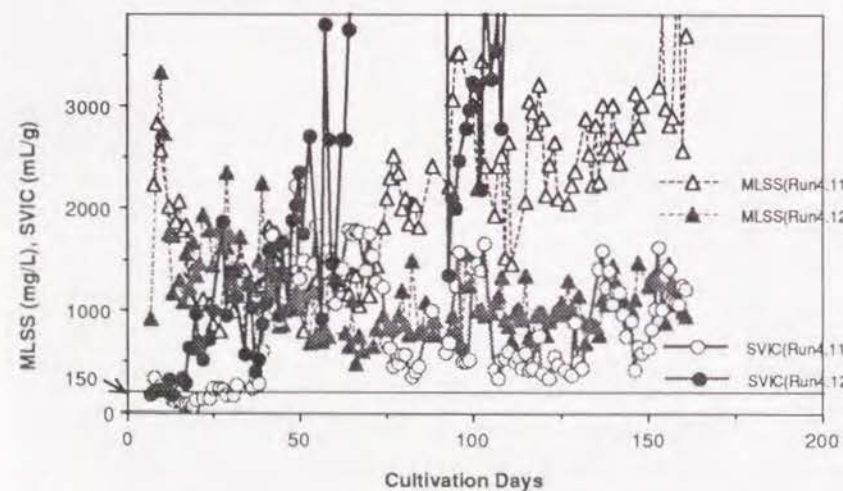


Fig. 3.33 The time courses of MLSS and SVIC of Run 4.11 and Run 4.12.

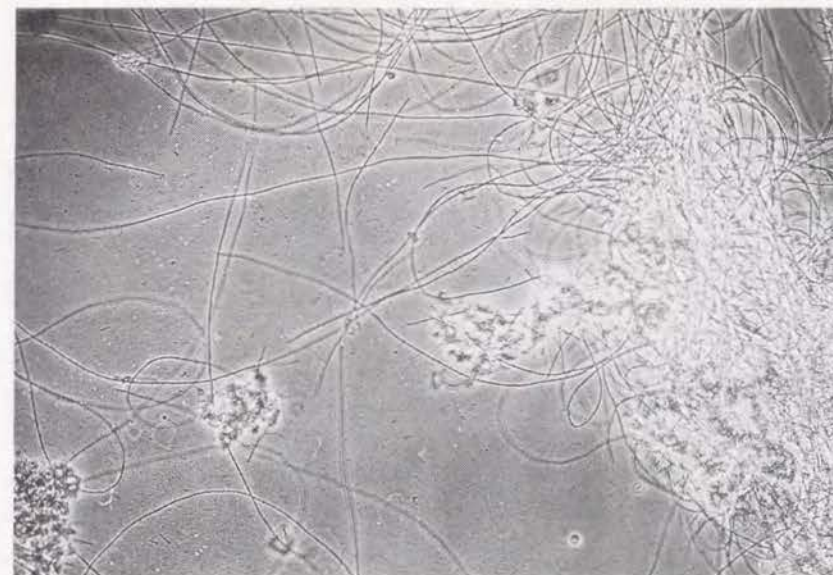


Photo.4.5 Activated sludge of Run 4.7.

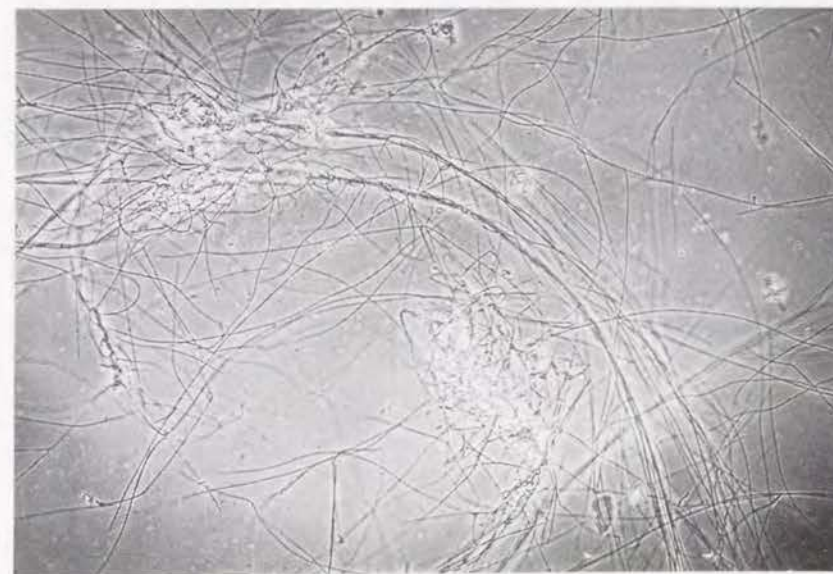


Photo.4.6 Activated sludge of Run 4.8.

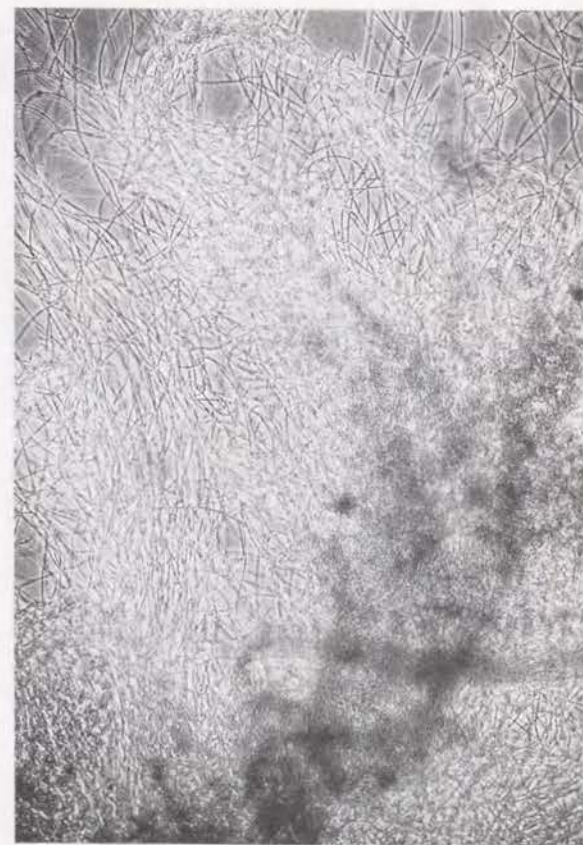


Photo.4.7 Activated sludge of Run 4.9.



Photo.4.9 Activated sludge of Run 4.11.

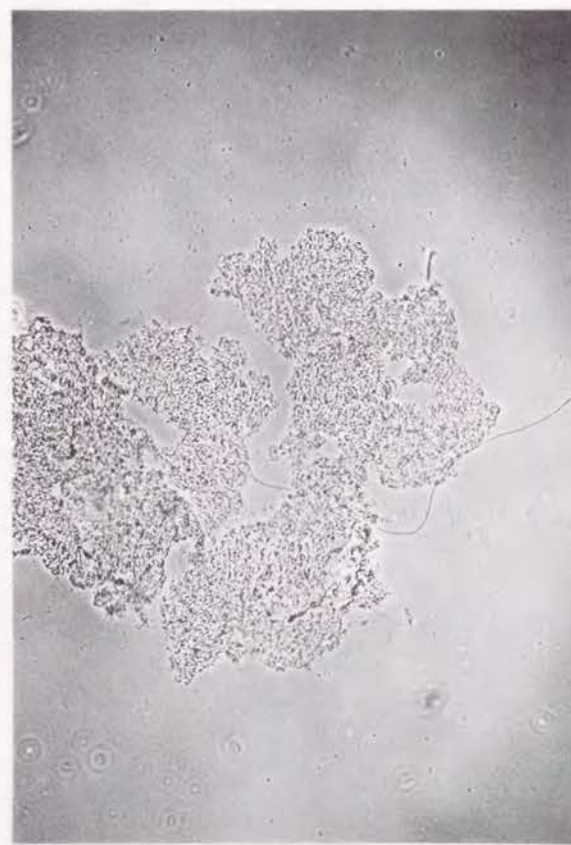


Photo.4.8 Activated sludge of Run 4.10.



Photo.4.10 Activated sludge of Run 4.12.

ブとなったが全糸状性細菌の現存量は変わらなかったため沈降性は改善されなかった (Photo. 4.9)。同様の人工廃水を用いて嫌気好気法で運転を行ったRun 4.12では直ちにバルキングが発生した。汚泥中の優先糸状性細菌はType 021Nであったが、河野 IV-1 タイプも共存していた (Photo. 4.10)。

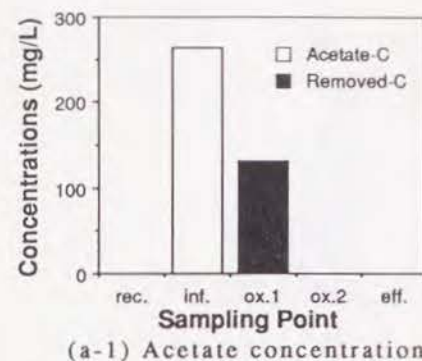
4. 2. 2 各槽の水質分析結果

Fig. 4.34、Fig. 4.35は酢酸を単一有機炭素源として運転を行なったRun 4.7 からRun 4.10の各槽の水質および汚泥内物質の分析結果を示している。標準法のRun 4.7 とRun 4.9 はよく似た結果を示している。酢酸は曝気槽1槽目で完全に除去されており、好気性細菌による分解を表わしているが、好気第1槽において、硫酸塩が減少し、汚泥中の硫化物含有量が増加している。これは、曝気槽において硫酸塩還元が起こったことを示唆するものである。嫌気好気法で運転を行ったRun 4.9 とRun 4.10もよく似た傾向を示している。嫌気槽では1槽目から2槽目にかけて酢酸はほとんど変化せず、流入酢酸濃度の半分程度であった。返送率を1に設定してあるため、酢酸が嫌気槽で全く変化がなかったと考えることができる。硫酸塩濃度も嫌気槽では殆ど変化しなかった。しかし、曝気槽第1槽目において硫酸塩が10mg/L程度減少し汚泥内硫化物が増加することが認められる。これは、曝気槽内で硫酸塩還元菌が活動したことを示している。嫌気槽内で十分に酢酸が与えられているにも関わらず酢酸が利用されなかったことから、系内の硫酸塩還元菌は酢酸は利用できないと考えた方が妥当であろう。硫酸塩還元菌は、曝気槽内で生成された汚泥の自己分解産物を利用したと考えられる。

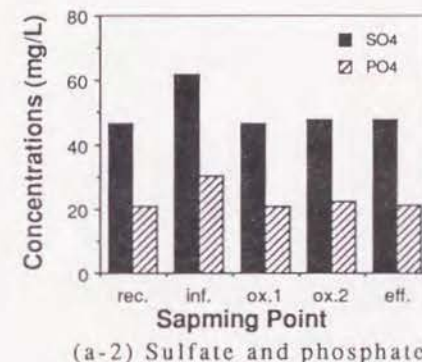
Fig. 4.36はRun 4.11とRun 4.12の各槽の水質および汚泥内物質を表している。標準法のRun 4.11では有機物の殆どが曝気槽第1槽目で分解され、硫酸塩濃度はペプトンの分解によって増加している。返送汚泥中の硫酸塩濃度の変化は認められないが硫化物がやや増加していることから、最終沈殿池では僅かながら硫酸塩還元が起こっていると考えられる。しかし、返送ラインの詰まり等でしばしば汚泥が最終沈殿池に長く滞留した初期に行なった実験では、返送汚泥中の硫酸塩濃度が50mg/L程度まで減少し、汚泥が黒変していることが観察されたことから、最終沈殿池内での硫酸塩還元が活発であったと考えられる。この時、汚泥中に存在していたType 021N の増殖は硫酸塩還元が一因となっていたことが考えられる。嫌気好気法のRun 4.12では嫌気槽において硫酸塩が18mg/Lにまで減少し硫化物含有量が増加している。硫酸塩の減少量に対し硫化物の増加量が少ないのは、嫌気槽の汚泥の採取に時間を要して硫化物が揮散したためと考えられるが、硫化物が検出されたことは嫌気槽において硫酸塩還元が起こっていることを示すものである。嫌気槽1槽目では蛋白質の減少と酢酸の生成が、嫌気第2槽では酢酸の減少が認められた。好気槽ではすみやかに硫酸化細菌によって硫酸塩が生成されていた。

4. 2. 3 硫酸塩還元菌の有機物分解に果たす役割

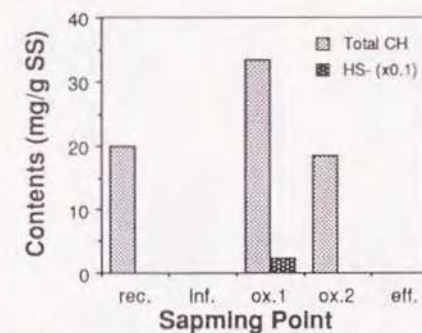
前述したように、Run 4.7 からRun 4.10で増殖した硫酸塩還元菌は酢酸は利用していないことが示唆された。Run 4.8の活性汚泥混合液と壁面付着汚泥を用いて、嫌気条件下での硫酸塩還元を伴う酢酸分解について回分実験により検討を行った。Fig. 4.37はRun 4.8の回分実験の結果の一例を示している。廃水中に単一有機炭素源として添加した酢酸は



(a-1) Acetate concentration.

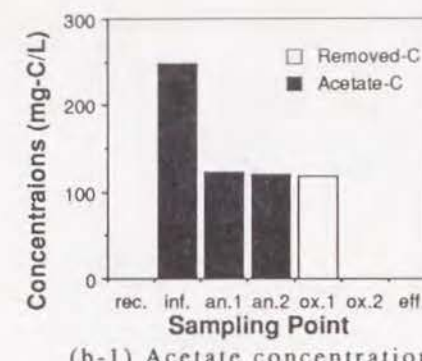


(a-2) Sulfate and phosphate.

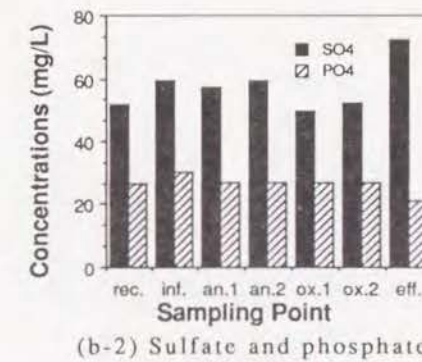


(a-3) Carbohydrate and sulfide contents.

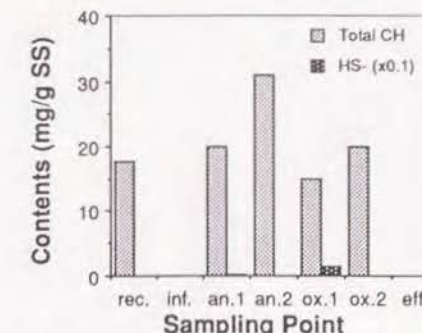
(a) Run 4.7



(b-1) Acetate concentration.



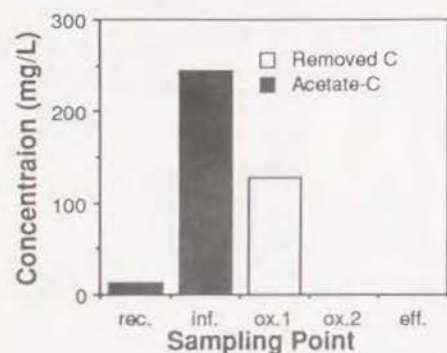
(b-2) Sulfate and phosphate.



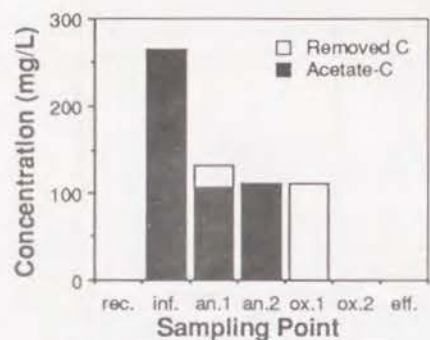
(b-3) Carbohydrate and sulfide contents.

(b) Run 4.8

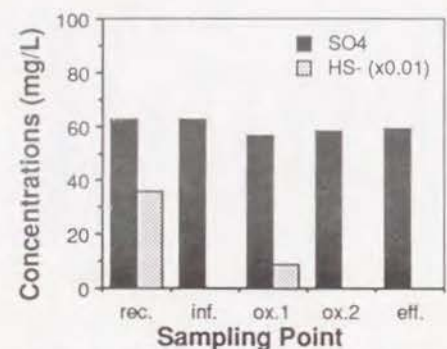
Fig. 4.34 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 4.7 and Run 4.8. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first oxic tank; ox.2 is second oxic tank; eff. is effluent tank.



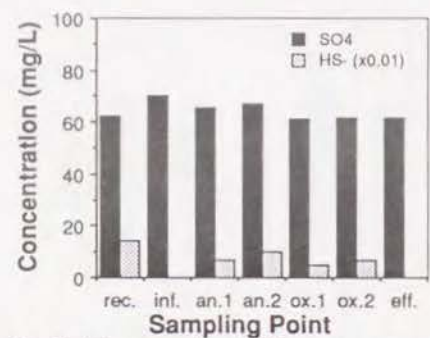
(a-1) Acetate concentration.



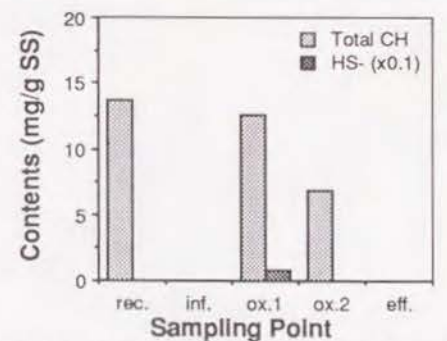
(b-1) Acetate concentration.



(a-2) Sulfate and sulfide concentration.

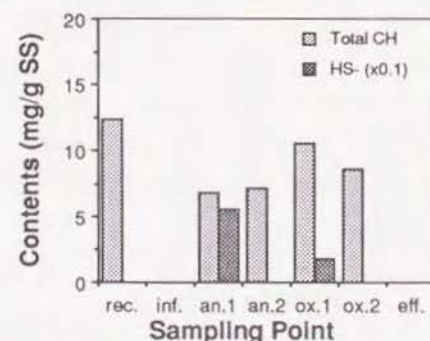


(b-2) Sulfate and sulfide concentrations.



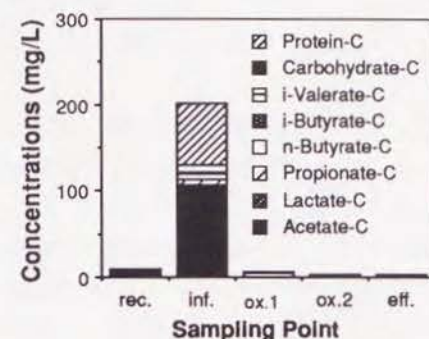
(a-3) Carbohydrates and sulfide contents. (b-3) Carbohydrates and sulfide contents.

(a) Run 4.9

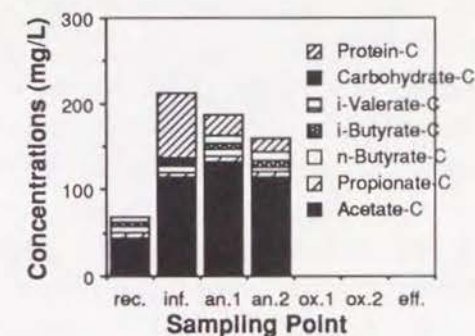


(b) Run 4.10

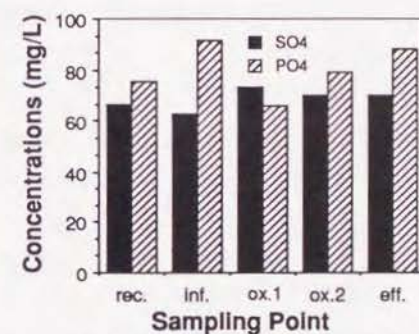
Fig. 4.35 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 4.9 and Run 4.10. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first ox. tank; ox.2 is second ox. tank; eff. is effluent tank.



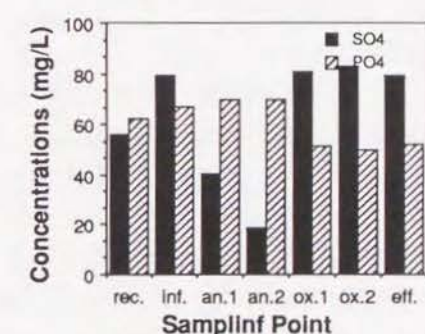
(a-1) Carbohydrate, protein and organic acids.



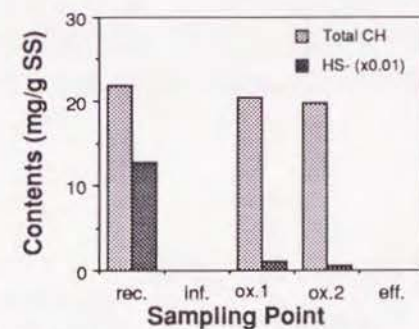
(b-1) Carbohydrate, protein and organic acids.



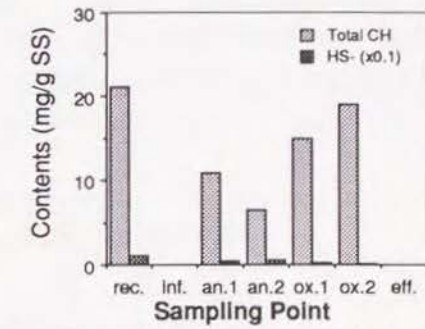
(a-2) Sulfate and phosphate.



(b-2) Sulfate and phosphate.



(a-3) Carbohydrates and sulfide contents. (b-3) Carbohydrates and sulfide contents.



(b) Run 4.12

(a) Run 4.11

Fig. 4.36 The result of the concentrations of analyzed substances in each tank of Run 4.11 and Run 4.12. Rec. is recycling sludge; inf. is influent; an.1 is first anaerobic tank; an.2 is second anaerobic tank; ox.1 is first ox. tank; ox.2 is second ox. tank; eff. is effluent tank.

除去されず、逆に硫酸塩の減少に伴って増加していることがわかる。同様の傾向が全ての回分実験において認められた。本装置内に成育した硫酸塩還元菌は微生物の自己分解産物を利用して酢酸を生成するものと考えられる。

Run 4.11とRun 4.12では種々の有機酸が検出された。活性汚泥を用い、酢酸、プロピオン酸、乳酸、酪酸、吉草酸を用いた回分実験を行った。Fig.4.38～Fig.4.43はその結果を示したものである。全ての回分実験において硫酸塩の減少と硫化物の増大が認められた。Fig.4.44は減少した硫酸塩と増加した硫化物の関係を示している。硫化物の測定方法が簡易的であることと、同時に調整して同時に開封してはいるが別々のバイアル瓶で測定したことによる片寄りがあるため、ややデーターはばらついてはいるが、減少した硫酸塩のほとんどが硫化物として検出されていることから、硫酸塩の減少は硫酸塩還元菌によるものと見做しても良いであろう。酢酸を用いた回分実験 (Fig.4.38) では、硫酸塩の減少と硫化物の増加にともなって酢酸が増加している。また、微生物の自己分解による溶解性蛋白質の増加が認められた。Run 4.7からRun 4.10の回分実験と比較すると、硫酸塩還元速度は実験方法の改良によって上昇しているが、傾向は類似していた。活性汚泥中に成育した硫酸塩還元菌は酢酸を利用せず酢酸を生成するものと考えられる。Run 4.12では嫌気槽第2槽目で酢酸が減少していた (Fig. 4.36-b-1) が、このとき嫌気槽壁面に汚泥が付着しており、その中に酢酸を利用する硫酸塩還元菌が存在していたが、活性汚泥中では優勢にはならなかったと推定される。Fig.4.39からFig.4.41はプロピオン酸、酪酸および吉草酸を用いた回分実験の結果を示している。これらの有機酸は減少せず、硫酸塩の減少と硫化物の増大に伴って酢酸が生成していることがわかる。汚泥の自己分解に伴う溶解性蛋白質の増加も認められた。硫酸塩還元菌は微生物の自己分解産物を利用して酢酸を生成していると考えられる。Fig.4.42は乳酸を用いた回分実験の結果を示している。硫酸塩の減少と硫化物の増大に伴って、乳酸が減少し酢酸が生成されている。Run 4.12の汚泥では、その他の有機酸と比較して硫酸塩と乳酸の減少量が多い。硫酸塩還元菌は乳酸を利用できると考えられる。Fig. 4.45 は乳酸を用いた回分実験における硫酸塩還元

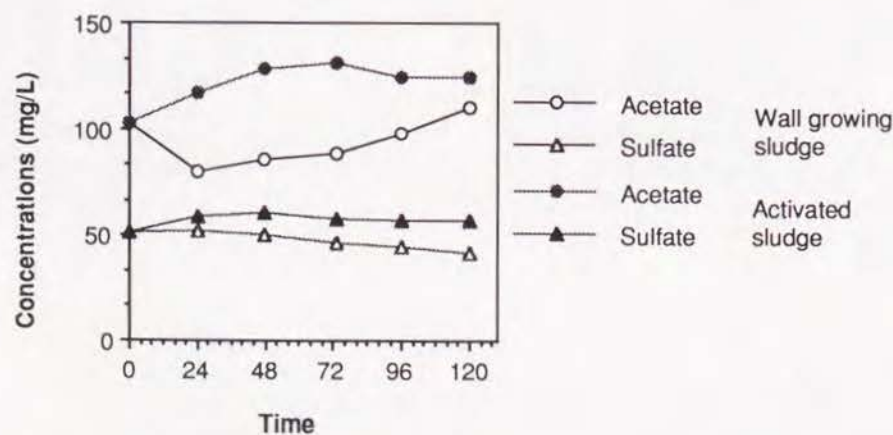


Fig. 4.37 A result of batch experiment using acetate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.8.

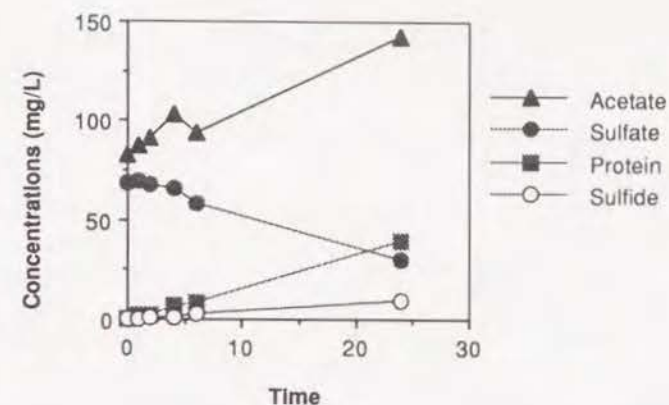


Fig. 4.38 A result of batch experiment using acetate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.12.

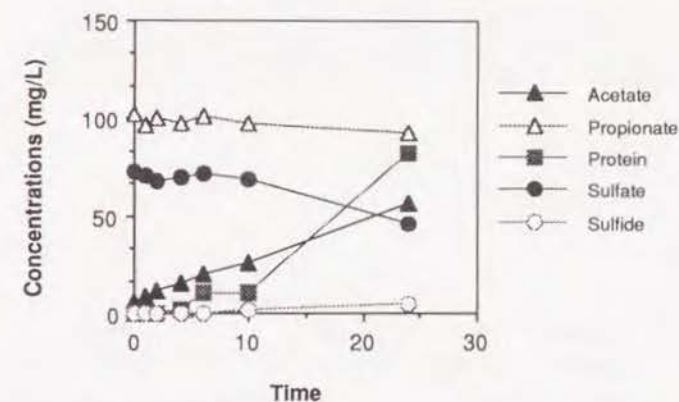


Fig. 4.39 A result of batch experiment using propionate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.12.

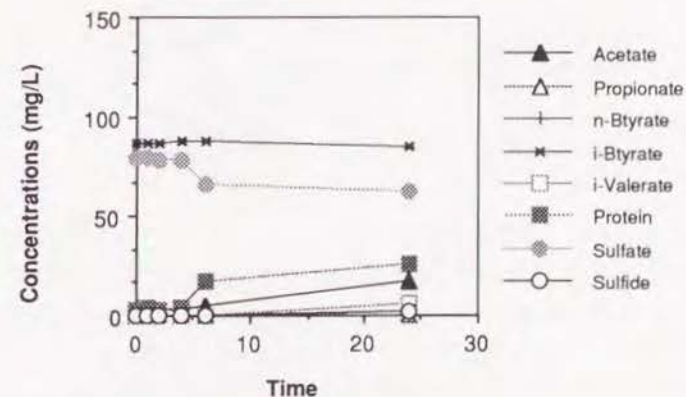


Fig. 4.40 A result of batch experiment using iso-butyrate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.12.

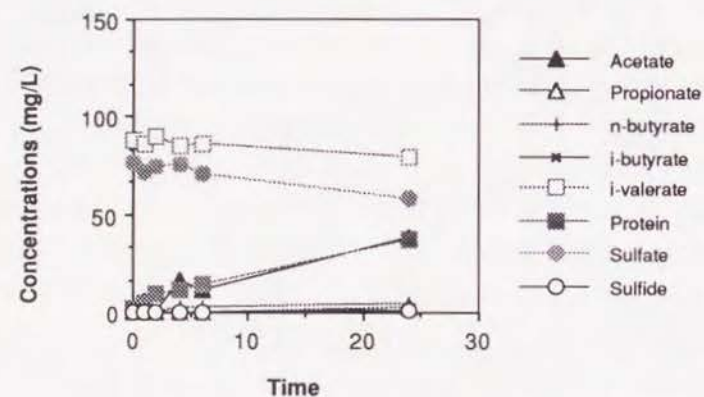


Fig. 4.41 A result of batch experiment using iso-valerate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.12.

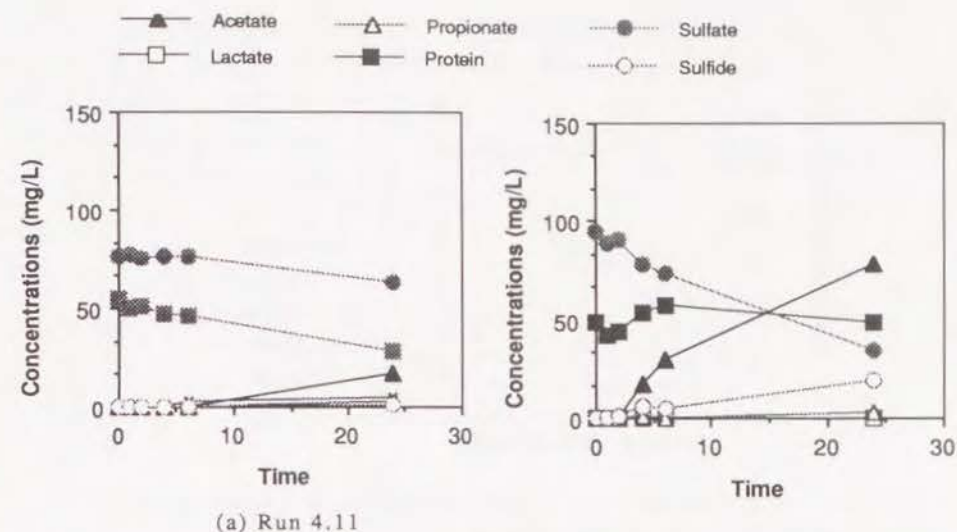


Fig. 4.43 Results of batch experiment using peptone as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.11 and Run 4.12

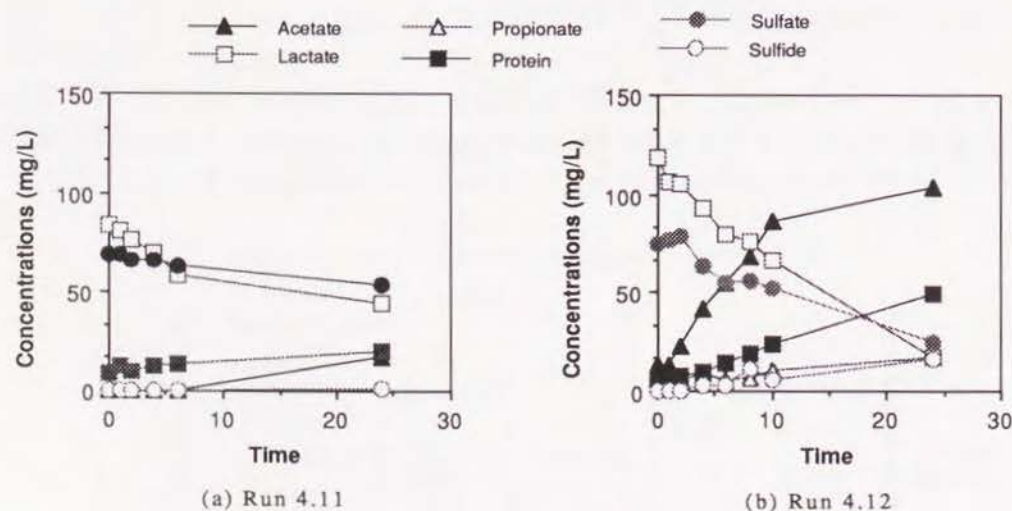


Fig. 4.42 Results of batch experiments using lactate as a carbon source in the anaerobic conditions using activated sludge of Run 4.11 and Run 4.12.

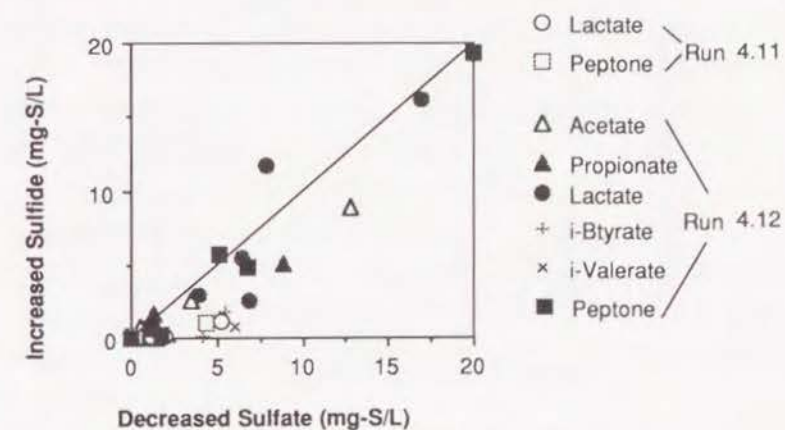


Fig. 4.44 Relationship between decreased sulfate and increased sulfide in the batch experiment.

量と乳酸分解量の関係を示している。図中の直線は乳酸がすべて硫酸塩還元菌により酢酸に転換されたと仮定した理論線である。実験結果は理論線とはほぼ一致していることから、乳酸を用いた回分実験では、汚泥中の硫酸塩還元菌は乳酸を不完全酸化して酢酸を生成したと考えられる。本実験で生成した活性汚泥中に成育した硫酸塩還元菌は乳酸を酢酸に不完全酸化できるタイプのものと考えられる。Fig. 4.43はペプトンを用いた回分実験の結果を示している。溶解性蛋白質は余り変化していないが、ローリー法により検出された蛋白質はペプトンと微生物自己分解産物の両方を含んでおり、ペプトンの減少と自己分解産物の増加が重なったものと考えられる。硫酸塩の減少と硫化物の増加に伴っ

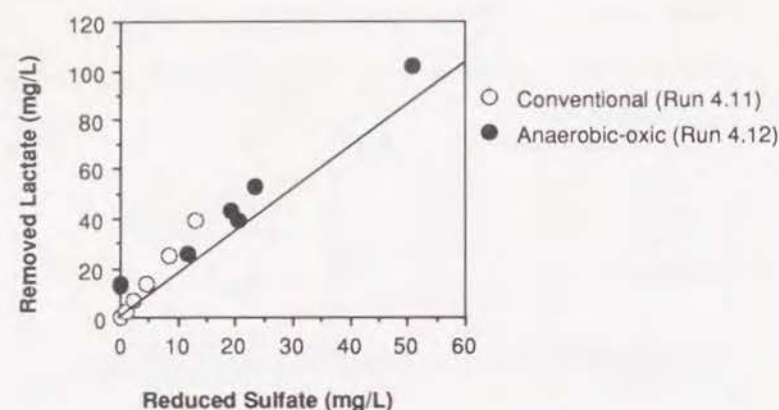


Fig. 4.45 Relationship between reduced sulfate and removed lactate in the batch experiments using lactate.

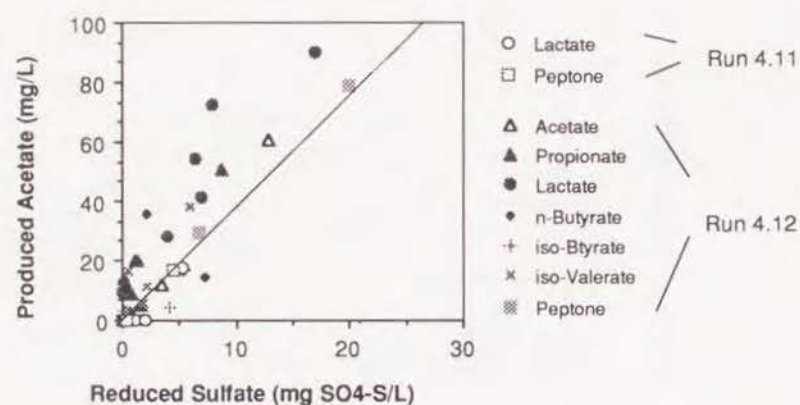


Fig. 4.46 Relationship between reduced sulfate and produced acetate in all batch experiments using activated sludge of Run 4.11 and Run 4.12.

て酢酸が多く生成されている。硫酸塩還元菌はペプトンの分解産物を利用したと考えられる。Fig.4.46 はすべての回分実験における硫酸塩還元量と酢酸生成量の関係を示している。図中の直線は酢酸がすべて硫酸塩還元菌により乳酸から生成されたと仮定した理論線である。ほとんどの実験において実験値は理論線をやや上回っており、硫酸塩還元の関与しない酢酸生成が同時に進行したと考えられるが、生成された酢酸のほとんどが硫酸塩還元菌の活動によるものと推定できる。Table 4.10にRun 4.11とRun 4.12の回分試験で得られた比硫酸塩還元速度をまとめて示した。ペプトンを用いた回分実験において硫酸塩還元速度がもっとも速く、ついで乳酸を用いた回分実験の順であった。硫酸塩還元とともに乳酸が著しく減少したにも関わらず、嫌気槽内で検出されたプロピオン酸

Table 4.10 Specific sulfate reduction rates obtained by the batch experiments.

	Run 4.11	Run 4.12 (mg SO ₄ /g MLSS. hr)
Acetate	-	0.83
Propionate	-	0.44
Lactate	0.31	1.11
iso-Butyrate	-	0.36
iso-Valerate	-	0.35
Peptone	0.26	1.23

や酪酸、吉草酸はほとんど減少しなかったことより、これらの有機酸を水素酢酸生成菌が利用して、そこで生成した水素を硫酸塩還元菌が利用したとは考えにくい。乳酸は流入人工廃水中には含まれておらず、装置内でも回分実験でも中間生成物として検出されることはなかったが、ペプトンは流入廃水中の主要有機物である。硫酸塩還元菌は主にペプトンから生成された乳酸もしくはペプトン由来の乳酸に類似した物質を利用していたと考えられる。乳酸の酸化経路はピルビン酸とアセチルCo-Aを経由することが知られている。いくつかのアミノ酸はピルビン酸やアセチルCo-Aに転換可能である。*Desulfovibrio* sp. 等の硫酸塩還元菌はアミノ酸を利用することができると報告されている。硫酸塩還元菌はペプトンから生成されたアミノ酸を利用したことも考えられるであろう。一方、Run 4.11の活性汚泥の硫酸塩還元活性はRun 4.12の汚泥と比較すると非常に低かった。糸状性硫黄細菌のType 021N がRun 4.12で多く生育したのは硫酸塩還元菌の活性が高かったためと考えられる。

4. 2. 4 活性汚泥中の硫酸塩還元菌数

活性汚泥と壁面付着汚泥中の硫酸塩還元菌数をMPN法により計数した。Table 4.11はその結果を示したものである。硫酸塩還元菌は1gの活性汚泥中には $10^5 \sim 10^7$ MPN、壁面付着汚泥中に $10^6 \sim 10^8$ MPN増殖していた。硫酸塩還元菌数は第3節のグルコースとペプトンを主体とする人工廃水で馴養した活性汚泥中の1/10程度であったが、時には活性汚泥細菌の0.1%を占めることになる。硫酸塩還元菌数は必ずしも硫酸塩還元活性を表してはおらず、硫酸塩還元菌数と糸状性細菌の増殖量の間に相関性は認められなかった。しかし、都市下水と比較的性質の近い人工廃水で好気性で馴養した活性汚泥中に硫酸塩還元菌が高い割合で計数されたということは非常に重要なことであり、硫酸塩還元菌に好適な条件になれば、硫酸塩還元菌の活性が増大し、糸状性細菌の増殖が起こることを意味すると考えられる。

Table 4.11 The number of sulfate reducing bacteria in the activated sludge and wall growing sludge of Run 4.7 to Run 4.12.

	Run 4.7	Run 4.8	Run 4.9	Run 4.10	Run 4.11	Run 4.12
Influent *	-	-	-	-	3.3×10^5	1.4×10^5
Liquid phase of * aeration tank	-	-	-	-	$4.6 \sim 9.4$ $\times 10^5$	$2.3 \sim 6.0$ $\times 10^4$
Activated sludge**	0.92×10^6	$3.4 \sim 26$ $\times 10^6$	$0.53 \sim 1.6$ $\times 10^6$	$18 \sim 36$ $\times 10^6$	$2.6 \sim 8.5$ $\times 10^6$	$2.0 \sim 3.2$ $\times 10^6$
Wall growing sludge** in anaerobic tank	-	26×10^6	-	87×10^6	1.8×10^6	-
Wall growing sludge** in aeration tank	11×10^7	3.4×10^6	$0.64 \sim 4.3$ $\times 10^6$	36×10^6	4.4×10^6	0

*; MPN/L

**; MPN/gSS.

第5節 活性汚泥内の微生物生態系

5.1 生態系モデルの概要

本節では本研究によって得られた実験結果を基に活性汚泥内の細菌群の生態系について考察する。生態系モデルにおいて、栄養性と呼吸によって、次の7種類の活性汚泥細菌群を考慮した。

1) 糸状性硫黄細菌

硫化水素やチオ硫酸等の還元型硫黄種を酸化して細胞内に硫黄粒を蓄え、さらに硫酸まで酸化することのできる糸状の細菌であり、活性汚泥中に出現するものは *Thiothrix* sp.、*Beggiatoa* sp.、Type 021N の3種である。いずれも絶対好気性細菌であり、栄養要求性としては淡水性の *Beggiatoa* sp. は混合栄養と考えられている。即ち電子供与体として還元型硫黄種と有機物の両者を利用できる。*Thiothrix* sp. と Type 021N については、河野の単離した II-10 タイプ (*Thiothrix* sp.) と II-3 タイプ (Type 021N) に関して、有機物濃度の高いときには従属栄養的に増殖し、有機物濃度が低い時には混合栄養形式または独立栄養形式で増殖すると報告されている。

2) 硫酸塩還元菌

絶対嫌気性細菌であるが、電子受容体として硫酸塩を用いる嫌気呼吸によってATPを生

産する。*Desulfovibrio* sp.、*Desulfococcus* sp.、*Desulfobacter* sp.、*Desulfobulbus* sp.、*Desulfotomaculum* sp.等がこのタイプに属する。

3) Poly-P蓄積菌

嫌気条件下で細胞内に蓄積してあるポリリン酸を分解することによって有機物を取り込むことができる細菌群といわれている。*Acinetobacter* sp. が最も有名であるが、近年多くの細菌がPoly-P蓄積能があることが報告されている。

4) 脱窒菌

多くは通性嫌気性であり、好気条件下では酸素呼吸を行うが、無酸素条件下（酸素は存在しないが硝酸が存在する）では硝酸を電子受容体とする硝酸呼吸を行うことができる細菌群である。

5) 水素酢酸生成菌

嫌気条件下でプロピオン酸などから水素と酢酸を生成する細菌であり、メタン生成菌や硫酸塩還元菌等の水素を利用する細菌との共存下でのみ増殖することができる。*Syntrophomonas* sp. や *Syntrophus* sp. などがこのグループに属する。

6) 絶対好気性他栄養性細菌

この細菌群は電子供与体として有機物を利用し、電子受容体として分子状の酸素を用いた呼吸によってATPを生産する。好気性の *Pseudomonas* sp. や、*Azotobacter* sp.、*Alcaligenes* sp. 等の多くのグラム陰性の他栄養性細菌がこれに属する。グラム陽性の *Bacillus* sp. の大部分と *Nocardia* sp. や *Mycobacterium* sp. 等の放線菌のいくつかもこのタイプに属する。

7) 硝酸呼吸を行わない通性嫌気性細菌

このタイプの細菌群は好気性の条件下では酸素呼吸によりATPを生産するが、嫌気条件下では醗酵によってATPを生産することができる。*Escherichia* sp.、*Enterobacter* sp.、*Serratia* sp.、*Salmonella* sp. 等の多くの腸内細菌はこのタイプである。*Staphylococcus* や *Micrococcus* 等の放線菌の幾つかもこのタイプに属する。

8) 硫酸呼吸を行わない絶対嫌気性他栄養性細菌

嫌気条件下で醗酵によってのみATPを生産できる。自然界において蛋白質の嫌気性分解に重要な役割を果たす *Clostridium* sp. がこのタイプに属する。

5.2 グルコースとペプトンで馴養した活性汚泥における生態系

第3節ではグルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて嫌気好気活性汚泥法の運転を行った結果、嫌気時間または嫌気槽において硫酸塩還元が著しく起こった。このプロセスの細菌群の生態系はFig. 4.47のように推定することができる。嫌気時間または嫌気槽では嫌気性細菌や通性嫌気性細菌が醗酵によってグルコースやペプトンから有機酸を生成する。回分実験の結果、活性汚泥中に成育した硫酸塩還元菌は、乳酸やプロピオン酸等の有機酸もしくは水素を利用するタイプのもの (*Desulfobulbus* sp. 等) であり、酢酸を完全酸化する *Desulfobacter* sp. 等は活性汚泥中には成育していないと考えられた。即ち、活性汚泥中の硫酸塩還元菌は、嫌気槽において発酵により生成した有機酸を

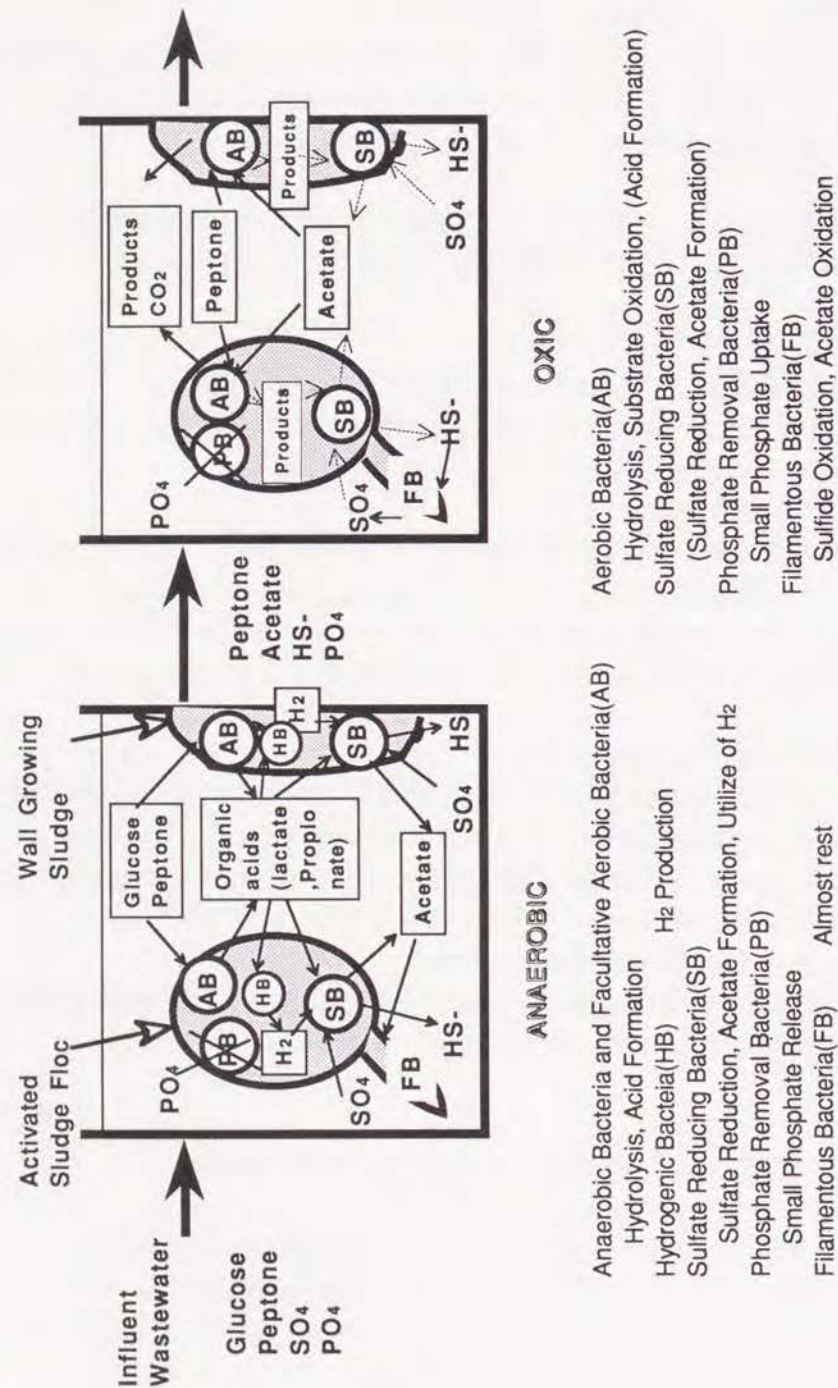


Fig. 4.47 Bacterial Population model in the activated sludge cultivated with glucose and peptone.

利用して酢酸を生成することができる。また、水素酢酸生成菌がプロピオン酸等から水素と酢酸を生成し、生成した水素を硫酸塩還元菌が利用することも考えられる。活性汚泥中に成育した硫酸塩還元菌は酢酸を生成するか水素を利用することによって水素酢酸生成菌の酢酸生成を助けることにより、何れにせよ酢酸の生成に関与していると考えられる。実験装置の各槽の水質分析結果から、硫酸塩還元率が高いとりん除去率が低下する傾向が認められた。嫌気槽または嫌気時間に硫酸塩還元が活発に起こると、何らかの理由でPoly-P蓄積菌の増殖が抑制されると考えられる。曝気時間または曝気槽では、嫌気時間または嫌気槽で分解されずに残ったペプトンと硫酸塩還元菌の関与によって生成された酢酸が流入する。好気性細菌や通性嫌気性細菌はこれらの有機物を直ちに分解する。糸状性硫黄細菌にとっても酢酸は非常に利用しやすい基質である。嫌気時間または嫌気槽で生成した硫化物もまた曝気時間または曝気槽に流入するため、糸状性硫黄細菌はこの硫化物も利用することができる。以上のように、硫酸塩還元菌は糸状性細菌のエネルギー源を供給することにより、その増殖に影響を与えるものと考えられる。

5. 3 酢酸とペプトンで馴養した活性汚泥における生態系

第4節では酢酸を単一有機炭素源として標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行った結果、曝気槽において硫酸塩還元が活発に起こっていた。その時の活性汚泥細菌群の生態系をFig. 4.48のように推定した。嫌気槽には酢酸のみが流入する。各槽の水質分析結果及び回分実験によって、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水で運転を行った時と同様に、酢酸を利用する硫酸塩還元菌は増殖しなかったと考えられた。本実験条件ではMLSS濃度が小さくPoly-P蓄積菌の増殖は認められなかったが、もし、実験条件が整ってPoly-P蓄積菌が活発に活動したなら、酢酸は減少したものと考えられる。SRTが短かったので硝化は起こらず硝酸塩も添加しなかったため、嫌気槽での脱窒は起こらなかった。硝酸塩が存在すれば、嫌気槽で脱窒が起こることも考えられる。本実験条件では嫌気槽で酢酸の利用は行われず、曝気槽にそのまま流入した。曝気槽では酢酸は好気性または通性嫌気性細菌によって直ちに分解される。糸状性細菌にとっても酢酸は利用しやすい基質である。微生物の自己酸化も活発に行われ、ブロック内部ではアミノ酸や有機酸が生成される。活性汚泥ブロック内部に増殖した硫酸塩還元菌は生成されたアミノ酸や有機酸を利用して酢酸を生成すると考えられる。糸状性硫黄細菌はブロック内部で生成した硫化物もエネルギー源として利用することができるため、好適な条件であったと考えられる。標準法でも曝気槽における生態系は嫌気好気法と同様と考えられる。しかし、特に鉄イオンを多く添加した系では生成した硫化物は硫化鉄となって沈殿するため、糸状性硫黄細菌は硫化物を利用することができなくなる。そのために、糸状性硫黄細菌の増殖は認められなかったものと考えられる。活性汚泥中には、別のタイプの糸状性細菌IV-1タイプが増殖しており、その理由については別の観点から解明する必要があるであろう。

第4節ではさらに、酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いた運転を行い、硫酸塩還元が嫌気槽で起こることを示した。この時の細菌群の生態系はFig. 4.49の様である

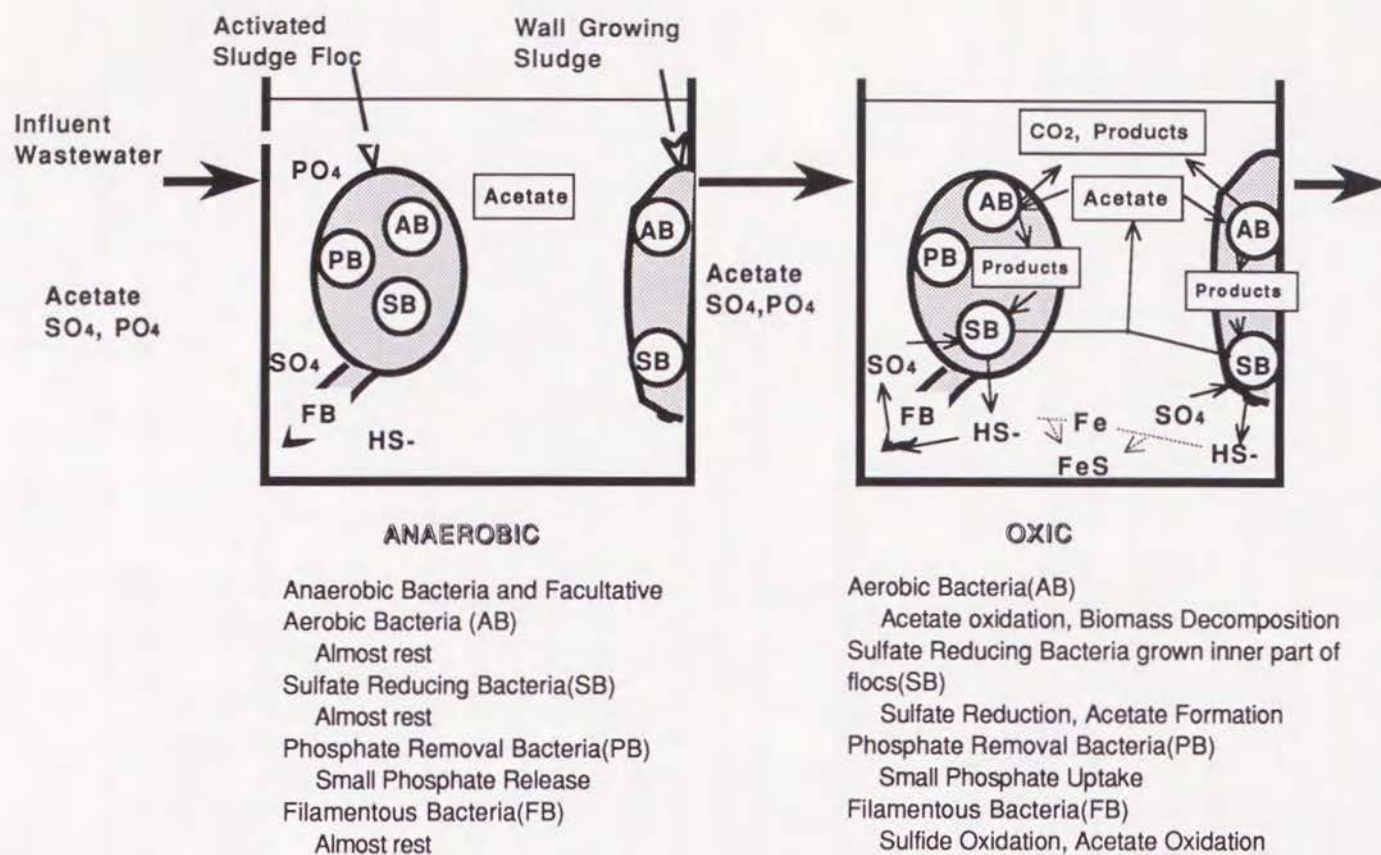


Fig. 4.48 Bacterial population model in the activated sludge cultivated with acetate.

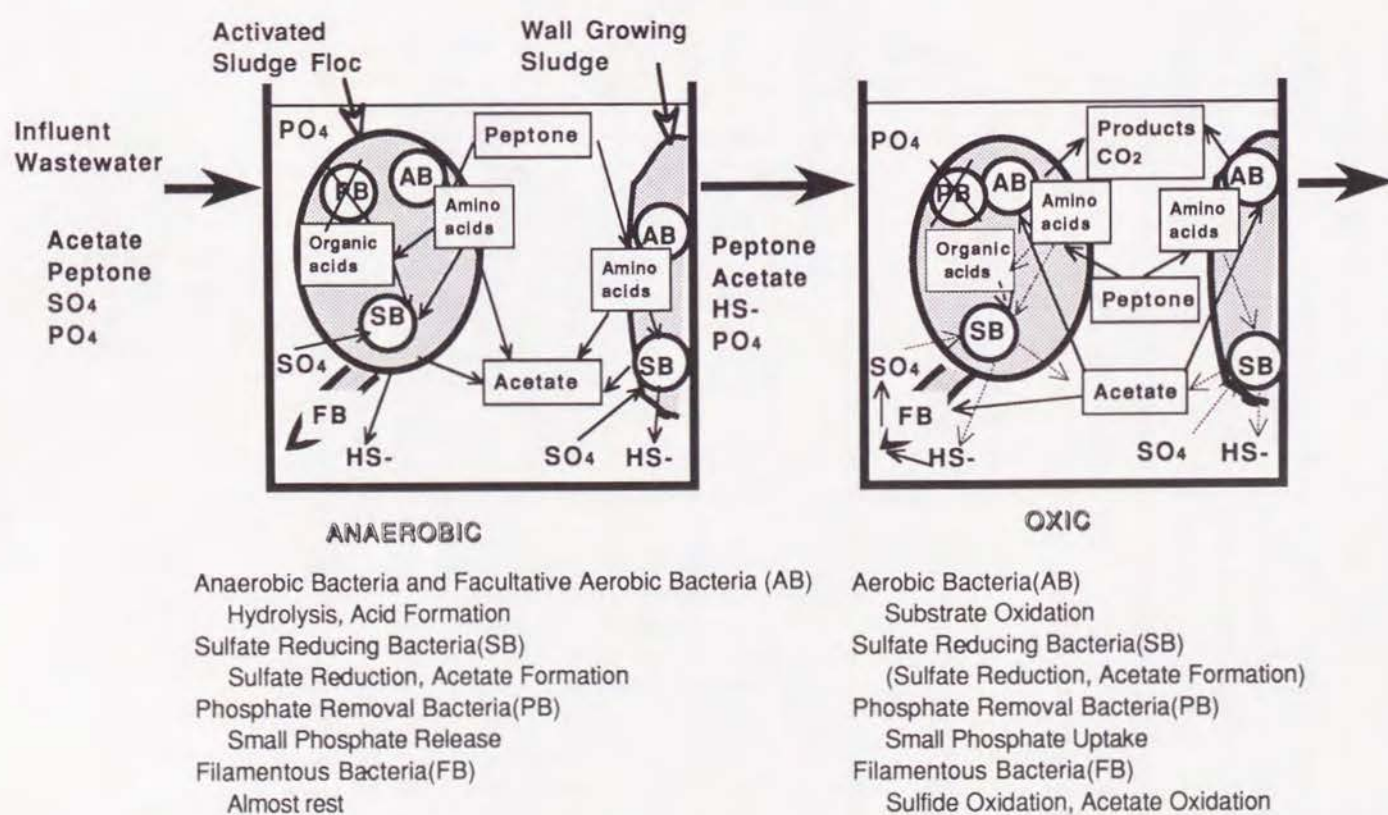


Fig. 4.49 Bacterial population model in the activated sludge cultivated with acetate and peptone.

と推定できる。嫌気槽では嫌気性細菌や通性嫌気性細菌が細胞外においてペプトンの加水分解を行い低分子化した後に、細胞内に取り込んで分解し、あるものは有機酸を生成する。回分実験の結果、活性汚泥内に成育した硫酸塩還元菌は主にペプトンから生成された乳酸を利用するか、乳酸に類似したアミノ酸を利用し、酢酸を生成するものと考えられた。曝気槽には、嫌気槽で分解されなかった流入水中のペプトンと酢酸および嫌気槽で生成した酢酸が流入する。これらは直ちに好気性細菌や通性嫌気性細菌によって利用される。糸状性硫黄細菌は曝気条件下では酢酸も硫化物も利用できるので優勢に増殖することができる。標準法では曝気槽に流入したペプトンは素早く好気性細菌または通性嫌気性細菌に利用され、硫酸塩還元は余り活発には起こらなかったが、フロック内部には硫酸塩還元菌は存在しており、最終沈澱池に汚泥が滞留すると硫酸塩還元が活発となり、糸状性細菌の増殖の一因となると考えられる。

5. 4 実処理場の活性汚泥の生態系

実処理場では初沈越流水中の有機物の大部分は蛋白質であった。溶解性蛋白質が多く流入すると汚泥の沈降性が悪化する傾向にあった。また、最初沈澱池での硫酸塩還元菌の増殖も関係していると予想された。活性汚泥細菌群の生態系はFig. 4.50 のように推定される。浮遊性の高分子の蛋白質はまずフロックに吸着され、アミノ酸に加水分解される。生成されたアミノ酸は他栄養細菌に直ちに利用され分解される。加水分解が蛋白質除去の律速段階であるので、生成されたアミノ酸のフロック内部への浸透は少ないと考えられる。即ち、フロック内部に成育している硫酸塩還元菌には基質の供給がなく、活性が低いものと考えられる。このために、糸状性硫黄細菌も増殖しにくいであろう。一方、低分子の蛋白質が多く流入すると、加水分解が速くなり、基質が硫酸塩還元菌にも供給される可能性がある。一度嫌気条件が存在すると硫酸塩還元菌が増殖し、糸状性細菌の増殖が起こることになる。実処理場では実験槽と比較すると処理槽の容積に対する壁面の面積が小さいので、壁面に増殖する硫酸塩還元菌の影響は無視できる程小さいと考えられ、糸状性細菌の増殖に対する硫酸塩還元菌の影響は実験槽よりも小さいかもしれない。しかし、硫酸塩還元が抑制されれば、糸状性硫黄細菌の増殖の一因を抑制することになるであろう。

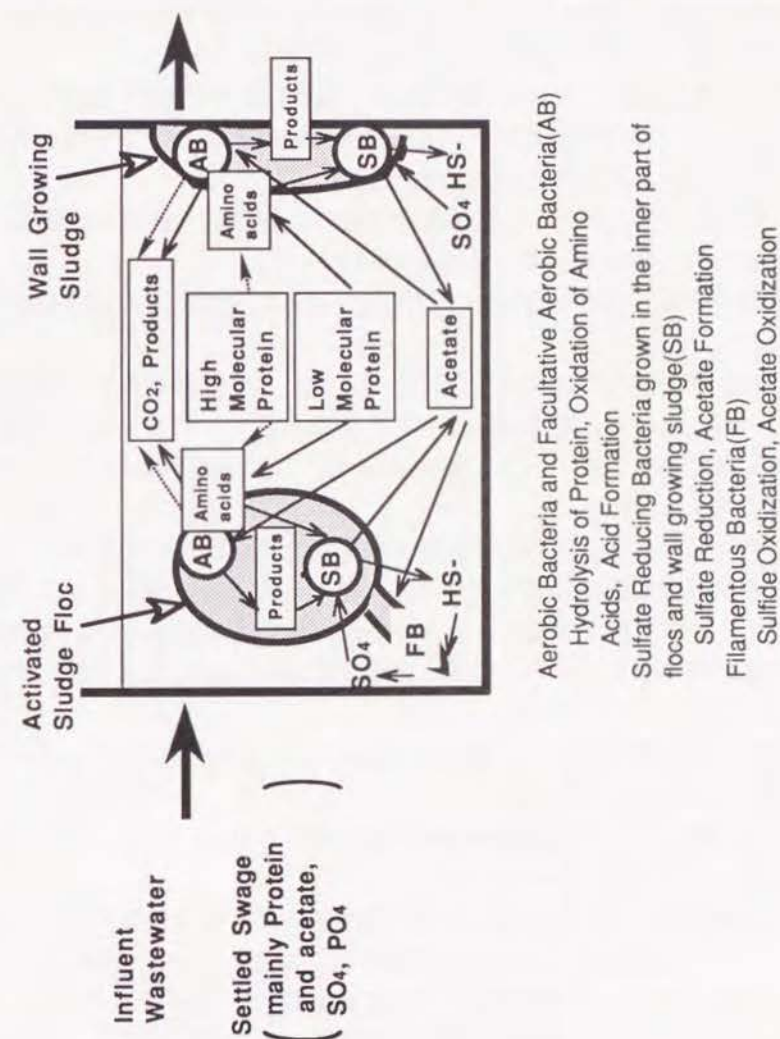


Fig. 4.50 Bacterial population model in the activated sludge in the actual wastewater treatment plant.

第6節 結 言

糸状性硫黄細菌の増殖による硫酸塩還元菌の影響について実験的に検討した。その結果をまとめると以下のようなものである。

1. 実処理場の調査を行った結果以下のことがわかった。
 - 1) 初沈越流水中に溶解性蛋白質が多く含まれると活性汚泥の沈降性が悪化する傾向にあった。
 - 2) 最初沈澱池では硫酸塩還元菌の増殖と酢酸の生成および蛋白質の可溶化が行なわれていた。これらの変化の著しい場合に、活性汚泥のバルキングが発生しやすいと考えられた。
 - 3) 硫酸塩還元菌は初沈越流水中に $10^7 \sim 10^8$ MPN/L、活性汚泥中に $10^6 \sim 10^7$ MPN/gMLSSと多く存在していた。硫酸塩還元菌は、糸状性硫黄細菌のエネルギー源を供給するため、バルキング発生との関係が考えられた。
2. グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用い、回分式と連続式の嫌気好気活性汚泥法の運転を行った結果、以下のことがわかった。
 - 1) 回分式、連続式ともに、嫌気時間または嫌気槽において硫酸塩還元が活発に起こった。
 - 2) 嫌気時間及び嫌気槽で硫酸塩還元が活発に起こると、糸状性細菌が多く増殖することが明かとなったことから、硫酸塩還元はエネルギー源として還元型硫黄種を利用できる糸状性硫黄細菌のType 021Nと*Beggiatoa* sp. の増殖によるバルキングの一因となっていると考えられた。
 - 3) 硫酸塩還元が活発に起こると何らかの理由でりん除去が阻害される傾向にあった。
 - 4) 活性汚泥中の硫酸塩還元菌は乳酸やプロピオン酸から酢酸を生成するか、水素酢酸生成菌の生成する水素を消費することにより酢酸の生成を助けるか、いずれかの方法で酢酸の生成に関与しているが、酢酸を利用する硫酸塩還元菌は活性汚泥中にはほとんど存在しないと考えられた。
 - 5) 硫酸塩還元菌は活性汚泥中に $10^7 \sim 10^8$ MPN/gMLSS、壁面付着汚泥中に 10^{10} MPN/gRSSSと高濃度に計数された。
3. 酢酸を単一有機炭素源とする人工廃水を用いて標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行った結果、以下のことがわかった。
 - 1) 標準法でも嫌気好気法でも、曝気槽において汚泥の自己分解産物を利用した硫酸塩還元が起こったが、硫酸塩還元菌による酢酸の消費は認められなかった。
 - 2) 曝気槽での硫酸塩還元が、糸状性細菌Type 021の増殖の一因となっていた。
 - 3) 廃水中の鉄濃度が高い場合には硫酸塩還元が活発に起こっても生成した硫化物が硫化鉄として沈澱するために糸状性硫黄細菌の増殖は認められなかった。
4. 酢酸とペプトンを主体とする人工廃水を用いて標準法と嫌気好気法の活性汚泥の運転を行った結果、以下のことがわかった。
 - 1) 嫌気槽においてペプトンから生成された、有機酸もしくは乳酸類似のアミノ酸を用いた硫酸塩還元が活発に起こり、糸状性硫黄細菌のType 021Nの増殖の一因となっ

ていた。

- 2) 標準法でも最終沈澱池に汚泥が長時間滞留した場合に硫酸塩還元菌の活性が上昇し、Type 021Nの増殖を招いた。
- 3) 嫌気好気活性汚泥法では硫酸塩還元が起こるとりん除去が阻害される傾向にあった。
- 4) 活性汚泥中にも壁面付着汚泥中にも、 $10^5 \sim 10^7$ MPN/gMLSSの硫酸塩還元菌が計数されたが、硫酸塩還元活性との相関性は認められなかった。
5. これらの実験における活性汚泥中の細菌群の生態系について考察を行った。硫酸塩還元菌は、糸状性硫黄細菌のエネルギー源となる硫化物と酢酸を供給することによって、その増殖を促進すると推定された。

以上のことより、糸状性硫黄細菌Type 021Nの増殖の一因は硫酸塩還元にあることが推定された。硫酸塩還元の抑制がバルキングの抑制に重要であると考えられる。

- 1) Shao Y. J. and Jenkins D. : The use of anoxic selectors for the control of low F/M activated sludge bulking. *Water Sci. Tech.*, Vol. 21, (6/7), pp. 609-619, 1989.
- 2) Wanner J., Kucman K., Ottava V. and Grau P. : Effect of anaerobic conditions on activated sludge filamentous bulking in laboratory systems. *Water Res.*, Vol. 21, pp. 1541-1546, 1987.
- 3) 新井武久, 及川直也 : 最初沈澱池バイパス水路設置によるバルキング対策事例, 第23回下水道研究発表会講演集, 1986.
- 4) 山本 (池本) 良子, 小森友明, 松井三郎 : 都市下水の最初沈澱池における水質変化について, 第27回衛生工学研究討論会講演集, pp. 1-2, 1991.
- 5) Yamamoto R. I., Matsui S. and Komori T. : Filamentous bulking and hinderance of phosphate removal due to sulfate reduction in activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, Vol. 23, Kyoto, pp. 927-935, 1991.
- 6) 中耕司, 山本良子, 小森友明, 松井三郎 : 酢酸馴養活性汚泥における硫酸塩還元について, 第44回土木学会年次学術講演会講演集, pp. 1042-1043, 1989.
- 7) Mara D. D. and Williams D. J. A : The evaluation of media used to enumerate sulfate reducing bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, Vol. 33, pp. 543-552, 1970.
- 8) Eikelboom D. H. : Identification of filamentous organisms in bulking activated sludge. *Prog. Wat. Tech.*, Vol. 8, No. 6, pp. 153-161.
- 9) 河野哲郎 : Microbiological study on activated sludge bulking caused by filamentous bacteria. 東京都立大学学位論文, 1987.
- 10) 山本良子, 小森友明, 松井三郎 : 活性汚泥の濃縮性, フロック形状及び沈降性に及ぼす糸状性細菌の増殖の影響, 下水道協会誌, Vol. 25, No. 292, 1988/9.
- 11) Kohno T. : Morphology, physiology and nutrition of a sulfur oxidizing filamentous organism isolated from activated sludge. *Water Sci. Tech.* Vol. 20, (11/12), pp. 241-247.
- 12) 河野哲郎, 猪又正一 : 活性汚泥中の糸状性硫黄細菌の識別, 生理, および栄養形式. *用水と廃水*, Vol. 31, No. 5, pp. 17-41, 1989.
- 13) Wanner J., Chudoba J., Kucman K. and Proske L. : Control of activated sludge filamentous bulking -- VII Effect of anoxic conditions. *Water Res.*, Vol. 21, pp. 1447-1451 1987.
- 14) 前出 1)
- 15) 前出 2)
- 16) Thauer R. K. : Energy metabolism of sulfate-reducing bacteria. In *Autotrophic bacteria* (Ed. Schlegel H. G. and Bowien B.), pp.397-414, *Springer-Verlag*, Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo, 1989.
- 17) 須藤隆一 他 : 活性汚泥法, 思考社

第5章 結論

本研究では、主に *Sphaerotilus natans* と Type 0211N の増殖に起因する活性汚泥のバルキングに関して、その発生機構を中心に検討を行ったものである。バルキングの発生機構を研究する場合には、原因糸状性細菌を明確にしてその現存量を正確に把握し、原因糸状性細菌ごとに発生原因の解明を行う必要がある。本研究では、まず、糸状性細菌の現存量としての糸状体長の計測方法を開発した。次に、過去の研究報告例の最も多い糸状性細菌である *Sphaerotilus natans* と、我が国の下水処理場で最も出現頻度の高い糸状性硫黄細菌である Type 021N の2種類の糸状性細菌についてその種類別に発生機構の解明を行った。

第2章では、まず最初に糸状性細菌の現存量を把握するために顕微鏡ビデオモニター装置による簡便な糸状体長とフロック形状の計測方法を開発した。その方法により、単時間で比較的ばらつきの少ない糸状体長を得ることができた。フロック径は正規分布に適合しており、その形状は球形度および円径度で評価することができた。次に、その方法を種々の汚泥に適用した結果、糸状体長は、 SV_{30} が30%以下になるようにして求めた汚泥容量指標SVICと関連性が深く、糸状性細菌が 10^3 cm/mgMLSS 以上になると沈降性が悪化することがわかった。糸状性細菌 10^2 cm/mgMLSS 以下では、凝集性が悪く分散状態やピンポイントフロックの状態で沈澱上澄みの濁度が大きい場合が多く、時には凝集性は良いが沈降性の悪い高粘性バルキング状態の汚泥も観察された。糸状性細菌 $10^2 \sim 10^3 \text{ cm/mgMLSS}$ では糸状性細菌が骨格となって、平均径が $100 \mu\text{m}$ 程度で比較的球に近い形状をした凝集性の良いフロックが形成されていた。糸状性細菌 10^3 cm/mgMLSS 以上になると沈降性、濃縮性が悪化し、フロックは糸状性細菌を軸として膨化して、時にはいびつな形状に変化した。最後に、この方法を用いて *Sphaerotilus natans* の活性汚泥内での増殖速度を求めた結果、1.0/日であり、活性汚泥内で対数増殖を行うことがわかった。以上の結果から、活性汚泥中の糸状性細菌は 10^3 cm/mgMLSS 程度で適度に存在させるのが好ましいが、一度何らかの理由で増殖状態に入ると急激な対数増殖になり、容易にバルキングを引き起こすため、常時、糸状性細菌の現存量を把握し活性汚泥状態の管理を行うことが非常に重要であることを指摘した。

第3章では *Sphaerotilus natans* の増殖によるバルキングについて、微生物の炭水化物貯蔵能力と炭水化物代謝能力の観点から実験的に検討を行った。まず、活性汚泥微生物の多糖類貯蔵量を正確に測定するために、従来からの測定方法を組み合わせて、細胞内と細胞外の炭水化物を分離する方法の開発を行い、その妥当性を検討した結果、本方法によって細胞外吸着物質や細胞外粘性物質のような細胞外に存在する多糖類の影響を少なくした細胞内多糖類の測定が可能であった。次に、グルコースとペプトンを主体とする人工廃水を用いて、種々の運転方法によって活性汚泥の運転を行い、生成した汚泥の多糖類貯蔵能力と炭水化物代謝速度の測定を行った。その結果、F/M比は糸状性細菌の増殖には影響せず、負荷速度と飢餓時間比が重要であることが明らかとなった。本実験条件では、負荷速度 $0.5 \text{ mg/L} \cdot \text{min}$ 以上で且つ飢餓時間比5以上の運転で、沈降性が良好で多糖類

貯蔵能力が大きく炭水化物代謝速度の小さな活性汚泥が生成されるが、負荷速度と飢餓時間比のいずれかが小さい場合に沈降性が悪化した。また、*Sphaerotilus natans* の多く増殖した汚泥は多糖類貯蔵能力が小さく、炭水化物代謝速度が大きかった。このことより、*Sphaerotilus natans* は多糖類貯蔵能力が小さい分だけフロック形成細菌に対して不利であるが、炭水化物代謝速度が速い分だけ有利であると考えられた。負荷速度が小さい運転ではフロック形成細菌の貯蔵にまわる余裕の炭水化物がなくなるために、また、飢餓時間比が小さい場合にはフロック形成細菌がその貯蔵容量を回復出来ないため、*Sphaerotilus natans* が優勢に増殖できると推定した。最後に、貯蔵過程を考慮した簡単な代謝モデルを用いて、貯蔵能力は大きい代謝速度の遅い微生物群であるフロック形成細菌と貯蔵能力はない代謝速度の速い微生物群である糸状性細菌の競合増殖として *Sphaerotilus natans* を原因とするバルキング発生を説明した。以上のことより、炭水化物を多く処理する下 wastewater 処理場における *Sphaerotilus natans* の発生によるバルキングの抑制には、接触槽を設けたり、押し出し流れに近い形状にすることは有効であるが、負荷速度と飢餓時間比の両者が大きくなるように改良することが重要であると考えられた。

第4章では、糸状性硫黄細菌であるType 021Nを原因とするバルキングの発生機構について、硫酸塩還元菌との共生関係から検討を行った。まず、最初沈澱池における硫酸塩還元を伴う水質変化について実処理場の調査を行った結果、最初沈澱池ではSSの沈澱除去のみならず、有機物の可溶化と硫酸塩還元が活発に起こっていることがわかった。また、初沈越流水中に溶解性蛋白質が多く存在すると沈降性が悪化する傾向にあった。これらのことより、最初沈澱池における水質変化を最小限にとどめることが、バルキングの抑制に有効であることを指摘した。次にグルコース、酢酸及びペプトンを人工廃水として室内実験を行った結果、嫌気好気活性汚泥法では硫酸塩還元率が増加すると沈降性が悪化しており、硫酸塩還元が糸状性硫黄細菌の増殖の一因となったと考えられた。また、硫酸塩還元が活発に起こるとりん除去が阻害されることがわかった。嫌気槽を設けない標準活性汚泥法でも、汚泥中で硫酸塩還元が起こり糸状性硫黄細菌に起因するバルキングの一因となっていると推定された。硫酸塩還元菌の利用する基質の検討を行った結果、活性汚泥中の硫酸塩還元菌は酢酸は利用せず、グルコースまたはペプトンから生成された有機酸またはアミノ酸を利用して酢酸を生成するか、水素酢酸生成菌の生成する水素を利用することによって酢酸の生成を助けるか、いずれにせよ酢酸の生成に関与していることが明らかとなった。最後に、活性汚泥中での微生物の生態系について考察を行い、硫酸塩還元菌が、糸状性硫黄細菌のエネルギー源である酢酸と硫化物を供給することにより、バルキングの発生を促進すると推定した。以上のことより、活性汚泥中の硫酸塩還元を抑制することがバルキング抑制に重要であることを指摘した。

以上のように、本論文はバルキングの発生機構を微生物の代謝機構による共生、競合関係から取り組んだものであり、従来からの現象論的なバルキング抑制方法の本質の一端を明らかにすることができた。本研究の成果は、思考錯誤的に行っていた施設の改良によるバルキング抑制を、より効果的に行うために有効であると考えられる。即ち、原因糸状性細菌を分類し、その現存量を把握して、糸状性細菌がバルキングの原因であることを確かめた後、*Sphaerotilus natans* やType1701によるバルキングであれば、負荷速度も飢餓時間比も小さくなるような接触槽を設置することが有効であろう。一方、原因糸状

性細菌がType 021N や *Thiothrix* sp. の場合には、最初沈澱池の汚泥の滞留をチェックして初沈内での硫酸塩還元を抑制するとともに、曝気槽や最終沈澱池に嫌気性となっているデッドスペースがないかどうかチェックすることも重要であろう。曝気槽前段部を嫌気性にすることがType 021N の抑制に有効であることが指摘されているが、この場合に嫌気性が強くなりすぎないように注意する必要がある。炭水化物を多く処理するような場合には、硫酸塩還元が起こりやすいので、この方法は適さないと考えられる。

最後に今後に残された課題について指摘する。第4章第4節で指摘したように、実下水中の有機物の主な成分は浮遊性の蛋白質である。実験に用いたペプトンは分子量が小さく、アミノ酸も多く含まれている。より実下水に近い組成の人工廃水を用いて、硫酸塩還元と糸状性硫黄細菌の増殖の関係を明らかにすることにより、我が国で最も出現頻度の高いType 021Nの増殖に起因するバルキングの発生機構を解明する必要がある。更に、硫酸塩還元の抑制によるバルキングの抑制方法の開発を行うことが重要であると考えられる。

謝 辞

本研究は、著者の最近10年余りの研究をまとめたものであります。薬学部を卒業したての未熟な私に衛生工学の初歩から指導し育ててくださり、今回本論文をまとめる機会を与えてくださった京都大学教授松井三郎先生に深く感謝の意を表する次第でございます。また、本論文をまとめるに当たり京都大学教授寺島泰先生ならびに同教授宗宮功先生に、ご指導を賜りましたことを深く感謝いたします。

金沢大学教授小森友明先生ならびに同助教授関平和先生には、終始温かく見守り、恵まれた環境のなかで研究を進めさせてくださるとともに、適切なご助言を賜りましたことを深く感謝いたします。また、土木建設工学科教職員の方々には、温かい励ましをいただくとともに、旧建設工学科共通備品であるパソコンの使用に御配慮いただき有難うございました。

本研究を進める際には、多くに方々の御助言をいただきました。特に、山梨大学河野哲郎先生には、糸状性細菌の分類に際しお世話になったことを厚く御礼申し上げます。学会等で御助言くださった多くの先生方にも、御礼申し上げます。

また、本論文は、私の未熟な指導に従い、多くの時間を費やして実験を行なってくださった金沢大学旧建設工学科ならびに土木建設工学科の卒業生たちの努力なしでは語れません。有難うございました。

最後に、著者を励まし、論文の校正に協力してくださいました、夫に感謝します。